Aus der Experimentellen Medizinischen Forschung
der Schering AG Berlin
Leiter: Professor Dr. med. Martin Kramer

VERGLEICHENDE TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUM MECHANISMUS DER HYPOGLYKÄMISCHEN WIRKUNG VON GLYMIDIN-NATRIUM, GLYDANIL-NATRIUM UND GLISOXAMID

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Karin Morczinneck, geb. Rosenthal
aus Braunschweig

1971

Aus der Experimentellen Medizinischen Forschung
der Schering A.G., Berlin
Leiter: Professor Dr. med. Martin K r a m e r .

Vergleichende tierexperimentelle Untersuchungen zum Mechanismus der hypoglykämischen Wirkung von Glymidin-Natrium, Glydanil-Natrium und Glisoxamid.

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin.

vorgelegt von:
Karin M o r c z i n n e c k geb. Rosenthal
aus Braunschweig.

Referent: Professor Dr. med. Martin K r a m e r

Korreferent: Professor Dr. med. Diether N e u b e r t

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 25. Januar 1971.

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis.

		Seite
1.	Einleitung	2 - 11
2.	Methodik	12 - 27
2.1	Tiermaterial	13
2.2	Verwendete Substanzen	14
2.3	Versuchsanordnungen	15 - 22
2.4	Blutglucose - und Seruminsulin-bestimmung	22 - 25
2.5	Statistik	25 - 27
3.	Ergebnisse	29 - 67
3.1	Nachweis der blutzuckersenkenden und insulinfreisetzenden Wirkung von Glymidin-Natrium, Glydanil-Natrium und Glisoxamid	29 - 57
3. 1.1	Einfluß auf die Glucosekonzentration im Blut und die Insulinkonzentration im Serum des peripheren Venenblutes bei Meerschweinchen, Mäusen, Kaninchen und Hunden	29 - 46
3.1.2	Einfluß auf die Insulinkonzentration im Serum des Pankreasvenenblutes von Hunden und des Pfortaderblutes von Ratten	47 - 57
3.2.	Nachweis einer fehlenden oder herabgesetzten blutzuckersenkenden Wirkung von Glymidin-Natrium, Glydanil-Natrium, Glisoxamid bei eingeschränkter oder ausgeschalteter Funktion der ß-Zellen	58 - 63
3.2.1	Untersuchungen an pankreatektomierten Hunden.	59
3.2.2	Untersuchungen an streptozotocindiabetischen Ratten	59
3.2.3	Untersuchungen an spontandiabetischen chinesischen Streifenhamstern	60 - 63

		Seite
3.3.	Untersuchungen zum Mechanismus der insulinfreisetzenden Wirkung von Glymidin-Natrium, Glydanil-Natrium und Glisoxamid	64 - 67
4.	Diskussion	68 - 76
5.	Zusammenfassung	77 - 79
6.	Literatur	80 - 92
	Lebenslauf	

1. E I N L E I T U N G

Die blutzuckersenkende Wirkung von Sulfonamiden ist seit etwa vierzig Jahren bekannt. 1930 hatten RUIZ, SILVA und LIBENSOHN eine Erniedrigung der Glucosekonzentration im Blut von Kaninchen nach oraler und intravenöser Gabe von 4'- und 5' Methylthioimidazol beobachtet. Die ersten Befunde am Menschen wurden von JANBON, CHAPAL, VENDEL und SCHAAP (1942) erhoben. Die Autoren fanden bei Typhuskranken, die mit p-Aminobenzolsulfonamidoisopropylthiodiazol (IPDT) behandelt wurden, Blutzuckersenkungen und neurologische Symptome, die auf eine Hypoglykämie hinwiesen. Es dauerte jedoch noch zehn Jahre, bis Verbindungen dieser Stoffklasse zur Behandlung bestimmter Formen des Diabetes mellitus verwendet wurden. Die erste in die Therapie dieser Erkrankung eingeführte Verbindung war das Carbutamid (FRANKE und FUCHS 1955).

Seit dieser Zeit wurde eine Reihe weiterer Sulfonamide mit blutzuckersenkender Wirkung entdeckt und therapeutisch verwendet. Die erste Abbildung enthält eine Übersicht über die chemische Struktur dieser Verbindungen. Mit Ausnahme von IPDT und Glyhexamid, zwei Sulfonylthiodiazolderivaten, handelte es sich zunächst um Sulfonylharnstoffe. Eine in neuerer Zeit synthetisierte Verbindung, das Glycodiazin (Glycodiz-Natrium, - Redul R: Hersteller Farbfabriken Bayer AG, Leverkusen und Scherin AG, Berlin -), unterscheidet sich

als Sulfonylpyrimidin chemisch, jedoch nicht in der Wirkungsweise von dieser Substanzklasse (KRAMER, HECHT, LANGECKER, HARWART, RICHTER und GLOXHUBER 1964 ; GERHARDS und KOLB 1965).

Das Hauptwirkungsprinzip dieser Substanzen beruht auf einer Stimulation der ß - Zellen des Pankreas. Ein erster Hinweis auf einen derartigen Mechanismus wurde von LOUBATIÈRES bereits im Jahre 1942 bei Vergleichsuntersuchungen über die blutzuckersenkende Wirkung von IPDT an normalen und pankreatektomierten Hunden erbracht. Er führte Anastomoseexperimente durch, bei denen die vena pankreatica eines Spenderhundes, der IPDT erhielt, mit der vena jugularis eines anderen Hundes verbunden wurde. Da das Empfängertier mit einer Blutzuckersenkung reagierte, schloß Loubatières 1944 auf einen pankreotropen Effekt der Substanz und vermutete, daß sie die Insulinsekretion stimuliert. Diese Annahme konnte in der Folgezeit durch eine große Anzahl von Untersuchungen für die verschiedenen Sulfonylharnstoffe und Glymidin-Natrium bestätigt werden. Neben dem Fehlen eines blutzuckersenkenden Effektes bei pankreatektomierten (LOUBATIERES 1942, 1964) oder schwer alloxandiabetischen Tieren (LOUBATIERES 1946 ; BÄNDER und SCHOLZ 1956 ; CREUTZFELDT und BÖTCHER 1956) basieren diese Befunde auf dem histologischen Nachweis einer Degranulierung der ß- Zellen in den Langerhans'schen Inseln (WILLIAMSON, LACY und GRISHAM 1961 ; BÄNDER 1962) , einer Abnahme des Insulingehaltes der Bauchspeicheldrüse (BÄNDER 1962), sowie einer vermehrten Insulinausschüttung. Sie wurde in vivo durch eine Erhöhung der Insulinkonzentration im Serum des peripheren-und Pankreasvenenblutes (LOUBATIERES 1946 ; LOUBATIERES, MARIANI, RIBES

und de MALBOSC, 1967 ; YALOW, BLACK, VILLAZON und BERSON, 1960 ; BÄNDER, 1962), in vitro an Pankreasschnitten (COORE und RANDLE, 1964; BOUMAN und GAARENSTROOM, 1961), isolierten Inseln (WEINGES, BIRO, KETTL und MITZUNO, 1969; LACY, JOUNG, FINK, 1968; LÖFFLER, TRAUTSCHOLD, SCHWEITZER und LOHMANN, 1969) sowie am isoliert perfundierten Pankreas (DONALD, CURRY, BENNETT und GRODSKY, 1968 ; LOUGATIERES, MARIANI, ALRIC, CHAPAL und PORTAL, 1967) durch eine Steigerung des Insulingehaltes im Perfusions - bzw. Infusionsmedium nachgewiesen.

Auf welche Weise Sulfonylharnstoffe und Sulfonylpyrimidine die Insulinabgabe aus den ß - Zellen steigern, ist bis heute nicht geklärt. Von wesentlicher Bedeutung für die Insulinfreisetzung ist die intrazelluläre Konzentration eines cyclischen Nucleotids, des Adenosin- 3'. 5' - Monophosphats (3', 5' - AMP). Diese Substanz vermittelt in den Inseln, ähnlich wie in zahlreichen anderen Geweben, als "second messanger" die Wirkung einer Reihe von Hormonen (SUTHERLAND, ROBISON und BUTCHER, 1968). 3'. 5'- AMP wird mit Hilfe der Adenyl- Cyclase gebildet und durch eine 3',5'- AMP-Phosphodiesterase zu 5'- AMP hydrolisiert. Zahlreiche Untersuchungen, die in vivo und in vitro an Pankreasschnitten, isolierten Inseln und an der perfundierten Bauchspeicheldrüse durchgeführt wurden, haben gezeigt, daß Hormone und Pharmaka, die über eine Aktivierung der Adenylcyclase (ACTH, ß - Rezeptoren stimulierende Catecholamine, STH, TSH, Vasopressin und Oxytocin) oder Aktivitätsabnahme der 3', 5' -AMP-Phosph Diesterase durch Theophyllin einen Konzentrationsanstieg des cyclischen Nucleotids hervorrufen, entweder direkt zu einer

Steigerung der Insulinabgabe führen, oder die durch Glucose stimulierbare Insulininkretion erhöhen (SUSSMANN und VAUGHAM, 1967 ; GENUTH und LEBOVITZ, 1965 ; TURTLE und KIPNIS. 1967 ; MARTIN und GARGLIADINO, 1967 ; MALAISSE, MALAISSE- LAGAE und McCRAW, 1967 ; KANETO, KOSAKA und NAKAO, 1967 ; COORE und RANDLE, 1964; PORTE, 1967 ; MALAISSE und MALAISSE - LAGAE, 1968 ; TURTLE, LITTLETON und KIPNIS, 1967 ; LAMBERT , JEANRENAUD und RENOLD, 1967 ; CAMPELL und RASTOGI, 1966).

Untersuchungen über eine Beteiligung des Adenylcyclase- 3',5'AMP-Systems an der insulinfreisetzenden Wirkung ß -cytotroper Sulfonamide haben zu unterschiedlichen Ergebnissen geführt. Eine Potenzierung des Tolbutamideffektes durch Coffein in vitro (LAMBERT, JEANRENAUD und RENOLD, 1960; LAMBERT, VECCHIO, GONET, JEANRENAUD und RENOLD, 1967) und eine Abschwächung durch ß -Rezeptorenblocker in vivo (BRESSLER, CORDON und BRENDEL, 1969 ; de DEVITIIS, GIORDANO, GALLO und JACONO, 1968) sprechen für diese Annahme. Die durch ß -Rezeptoren stimulierende Substanzen verursachte Steigerung der Insulininkretion wird durch ß -Blocker aufgehoben. (PORTE, 1967). Gegen eine Beteiligung des cyclischen 3',5'-AMP an der Wirkung der Sulfonylharnstoffe spricht die Tatsache, daß durch Diazoxid, ein nicht sulfonamidiertes, nicht diuretisch wirksames Benzothiadiazinderivat, zwar die durch Glucose, Isoproterenol, Glucagon und Theophyllin stimulierte Insulininkretion unterbunden wird. (LOSERT, SENFT, SITT und KAESS, 1966 ; FRERICHS, GERBER und CREUTZFELDT, 1966 ; SENFT, SITT, LOSERT, SCHULTZ und HOFFMANN, 1968 ; BRECH, KAESS, SCHLIERF und ROHS, 1968; LOSERT, ROSENTHAL, JAHN und SITT, 1970), nicht jedoch der Effekt von Tolbutamid (LOUBATIERES, MARIANI, ALRIC,

CHAPAL und PORTAL, 1967 ; LOUBATIERES, MARIANI, RIBES und de MALBOSC, 1967).

Der tierexperimentellen Beobachtung, daß blutzuckersenkende Sulfonamide nach Entfernung der Bauspeicheldrüse wirkungslos sind, entspricht die klinische Erfahrung. Diese Pharmaka können nur dann zur Behandlung eines Diabetes mellitus verwendet werden, wenn die Funktionsfähigkeit der Bauchspeicheldrüse noch nicht völlig erloschen ist. Sie eignen sich also nicht zur Therapie eines insulinpflichtigen Diabetes vom jugendlichen Typ, sondern können lediglich zur Behandlung des sogenannten Altersdiabetes benutzt werden. (PFEIFFER, DITSCHUNEIT und SCHÖFFLING, 1961 ; FERGUSON, 1965). Bei dieser Erkrankung ist zunächst der Insulingehalt der Bauspeicheldrüse nicht herabgesetzt, die ß -Zellen reagieren jedoch auf eine Zufuhr von Glucose mit verminderter und verzögerter Insulinabgabe (PFEIFFER, DITSCHUNEIT und SCHÖFFLING,1961).

Ob die blutzuckersenkende Wirkung der Sulfonylharnstoffe und Sulfonylpyrimidine ausschließlich auf einer vermehrten Insulinfreisetzung aus dem Inselorgan beruht, konnte bis heute nicht eindeutig geklärt werden. CREUTZFELDT, FRERICHS und PERINGS (1968) beobachteten nach einem Suizidversuch mit Tolbutamid eine protrahierte Hypoglykämie bei normaler oder sogar erniedrigter Insulinkonzentration im Serum. Als mögliche Erklärung hierfür diskutierten sie, daß Sulfonylharnstoffe unter anderem den Insulineffekt auf die periphere Glucoseaufnahme in der Skelettmuskulatur potenzieren. Befunde, die in diese Richtung weisen, wurden von MADSEN (1967) und LOUBATIERES

(1964) veröffentlicht. Eine weitere Erklärung für diesen Phänomen könnte darin bestehen, daß die Glucoseabgabe aus der Leber unter dem Einfluß von Sulfonylharnstoffen eingeschränkt wird (BÄNDER,1956 ; CREUTZFELDT und SÖLING, 1960). Eine Reihe von Befunden weisen auf eine direkte Hemmung des Glykogenabbaus in der Leber durch Sulfonylharnstoffe hin (BERTHET, 1956 ; VAUGHAM, 1957). Die Einschränkung der Glucoseabgabe in vivo beruht offenbar nicht auf diesem Effekt (GERHARDS, NIEWEBOER und GUTSCHE, 1968), sondern muss im wesentlichen auf eine Insulinwirkung zurückgeführt werden. Im Gegensatz zur peripheren Glucoseaufnahme in der Skeletmuskulatur und im Fettgewebe, für die die Insulinkonzentration im peripheren Blut von Bedeutung ist, hängt die Einschränkung des " glucose output " aus der Leber von der Konzentration des Hormons im Pfortaderblut ab (GERHARDS, NIEWEBOER und GUTSCHE, 1968). Es ist daher wahrscheinlich, daß der Sulfonidamideffekt an der Leber auf einer Stimulation der Insulinfreisetzung beruht, die zwar im Pfortaderblut, nicht jedoch nach Passage der Leber im peripheren Blut zu einem deutlich nachweisbaren Konzentrationsanstieg des Hormons führt (BÄNDER, 1962; PFEIFFER und SCHÖFFLING, 1969 s.d. weitere Lit.; CREUTZFELDT, FRERICHS und PERINGS, 1968 ; GERHARDS, NIEWEBOER und GUTSCHE, 1968).Möglicherweise verursachen Sulfonylharnstoffe zusätzlich eine Sensibilisierung der Leber für die Wirkung von Insulin (COLWELL, 1964).

Konzentrationsunterschiede im prae- und posthepatischen Venenblut sind dadurch bedingt, daß in der Leber etwa 50% des einströmenden Insulins abgebaut werden (MIRSKY, 1957 a). Eine Hemmung der Insulinase wurde auf Grund von in vitro- Versuchen ebenfalls als Wirkungsmechanismus der Sulfonylharnstoffe vermutet (MIRSKY, 1957 b). Diese Annahme konnte durch in vivo Experimente nicht bestätigt werden(BERSON,YALOW, WEISENFELD,

GOLDNER und VOLK, 1957; RECANT und FISCHER, 1957; WICK, BRITTON und GRABOWSKI, 1956; WEAVER, PROUT, SCOTT und ASPER, 1958 ; BOLINGER und GRADY, 1957). Diskutiert wurde weiterhin eine Aufhebung der insulinantagonistischen Wirkung verschiedener Eiweißfraktionen des Serums durch Sulfonylharnstoffe (MILLER und CRAIG, 1956), sowie eine Herabsetzung der Bindung von Insulin an Insulinantikörper (HASSELBLATT und SCHMIETA, 1961 ; HASSELBLATT, 1963 ; OTTO und KÖRNER, 1963). Ob diese Beobachtungen für die Wirkung dieser Substanzklasse am Menschen relevant sind, ist jedoch zweifelhaft (PFEIFFER, SCHÖFFLING und DITSCHUNEIT, 1968).

Daß eine Steigerung der Insulinfreisetzung auch die wesentliche Ursache des therapeutischen Effektes von Glibenclamid (- Euglucon^{R}, DAONIL^{R}, : Hersteller Farbwerke Hoechst AG, Frankfurt und Boehringer Mannheim GmbH-), einer neuen, seit kurzem zur Behandlung des Altersdiabetes verwendeter Substanz ist, haben ausführliche tierexperimentelle und klinische Untersuchungen ergeben (BÄNDER, PFAFF, SCHMIDT, STORK und SCHRÖDER, 1969 ; SCHMIDT, STORK, BÄNDER und PFAFF, 1969 ; PFAFF und SCHÖNE, 1969 ; WEINGES, BIRO, KETTL und MITZUNO, 1969 ; HELLMAN, IDAHL, TJÄLVE, DANIELSSON und LERNMARK, 1969 ; PFAFF und SCHRÖDER, 1969 ; GOBERNA, FUSSGÄNGER, RAPTIS und PFEIFFER, 1969 ; HINZ, HUBER, KARSTEN, RAPTIS und PFEIFFER, 1969 ; GRODSKY, CURRY, BENNETT, 1969 ; COORE, 1969 ; MALAISSE, MALAISSE-LAGAE, 1969 ; WEINGES, 1969 ; DUBACH, 1969 ; BRUNETTY, SANTEUSANIO und ARENA, 1969 ; QUABBE und KLIEMS, 1969 ; HELLMAN, 1969 ; HEBOLD, SCHOLZ, SCHÜTZ, CZERWEK, SAKAGUCHI, BRUNK, NOTHDURFT, KIEF, BAEDER und HARTIG, 1969 ; KERN, KERN, SCHMIDT und STORK, 1969 ; LOUBATIERES, MARIANI, RIBES, de MALBOSC, ALRIC, CHAPAL, 1969 ; FUSSGÄNGER, GOBERNA, HINZ, JAROS, KARSTEN, PFEIFFER und RAPTIS, 1969 ; LÖFFLER, TRAUTSCHOLD, SCHWEITZER

und LÖHMANN, 1969 ; HOWELL und LACY, 1969 ; AGUILAR-PARADA, EISENTRAUT und UNGER, 1969 ; RAPTIS, RAU, SCHRÖDER, FAULHABER und PFEIFFER, 1969 ; CHANDALIA, HOLLOBAUGH, PENNINGTON und BOSHELL, 1969 ; HADDEN, BHATIA, RIGAS, WEAVER und MONTGOMERY, 1969 ; OTTO, HALLE und THUN, 1969 ; MÜLLER, BAUER, SCHRÖDER und SAITO, 1969). Hierbei handelt es sich um einen Sulfonylharnstoff (ABB.2), dessen Wirksamkeit erheblich größer ist, als die der bisher verwendeten ß - cytotropen Sulfonamide (BÄNDER, 1969). Die Wirkungsteigerung ist jedoch nur relativ, denn zur Erzielung des gleichen Effektes werden geringere Dosen benötigt. Eine absolut höhere Insulinkonzentration als unter dem Einfluß anderer Sulfonamide wurde weder in vivo noch in vitro gemessen (PFAFF, SCHÖNE und SCHRÖDER, 1969 ; SIREK, VIGAS, A.NIKI, H.NIKI und A.SIREK, 1969 ; LOUBATIERES, 1969 ; GOBERNA, FUSSGÄNGER, RAPTIS und PFEIFFER, 1969).

Auf der Suche nach weiteren ß - cytotropen Substanzen, die eine niedrigere Dosierung erlauben, wurden in den Forschungslaboratorien der Schering AG (Berlin) und der Farbenfabriken Bayer AG (Leverkusen) zwei Verbindungen synthesisiert, die gegenüber Tolbutamid und Glymidin-Natrium eine erhebliche Wirkungssteigerung aufweisen. Ihre chemische Struktur und ihre "generic names " sind in Abb.3 angegeben. Glydanil-Natrium (Prüfpräparat BS 1051 der Schering AG., belgisches Patent Nr. 726 253) ist wie Glykodiazin (Glymidin - Natrium) ein Sulfonylpyrimidin ,

bei Glisoxamid (Prüfpräparat BS 4231 der Farbenfabriken Bayer, belg. Patent Nr. 724 395. Die Bezeichnung "Glisoxamid" wurde als generic name beantragt, von der WHO aber in der Zwischenzeit nicht genehmigt. Daraufhin wurde als generic name " Glisoxepid " vorgeschlagen. Ein endgültiger Name steht noch nicht fest, aus diesen Gründen wurde in der vorliegenden Arbeit der Name Glisoxamid beibehalten.) handelt es sich um ein Sulfonylsemicarbazid.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Wirkungsweise und den Wirkungsmechanismus dieser neuen Verbindungen im Vergleich zu Glymidin-Natrium zu studieren.

Zunächst wurden Dauer und Ausmaß der blutzuckersenkenden Wirkung bei verschiedenen Tierarten und die relativen Wirksamkeiten ermittelt.

Weiterhin wurde geprüft, ob der hypoglykämische Effekt auf eine Steigerung der Insulininkretion zurückgeführt werden kann. Hierzu wurde die Wirksamkeit der Verbindungen bei eingeschränkter oder aufgehobener Funktion des Inselorgans studiert.

Ausserdem wurden an intakten Tieren die Insulinkonzentrationen im Serum des peripheren und in einigen Fällen auch des Pfortader- bzw. des Pankreasvenenblutes nach Gabe verschiedener Dosen der drei Substanzen bestimmt und die Wirkungsunterschiede berechnet. Durch gleichzeitige Messung des Insulingehaltes in beiden Gefäßbereichen sollte zugleich geprüft werden, ob eine Beeinflussung des Insulinstoffwechsels in der Leber durch die drei Pharmaka ausgeschlossen werden kann.

Abschliessend wurden einige Untersuchungen zur Frage ihres Wirkungsmechanismus durchgeführt. Vergleichende Messungen der Insulininkretion nach Gabe der drei Sulfonamide bei verschiedenen Glucosekonzentrationen im Blut oder zusätzlicher Behandlung mit Theophyllin, Diazoxid, α und ß - Rezeptoren blockierender Substanzen sollten einen Hinweis auf mögliche Unterschiede geben und einen Beitrag zur Klärung der Frage leisten, ob 3',5'- AMP am Zustandekommen des Effektes ß - cytotroper Sulfonamide beteiligt ist.

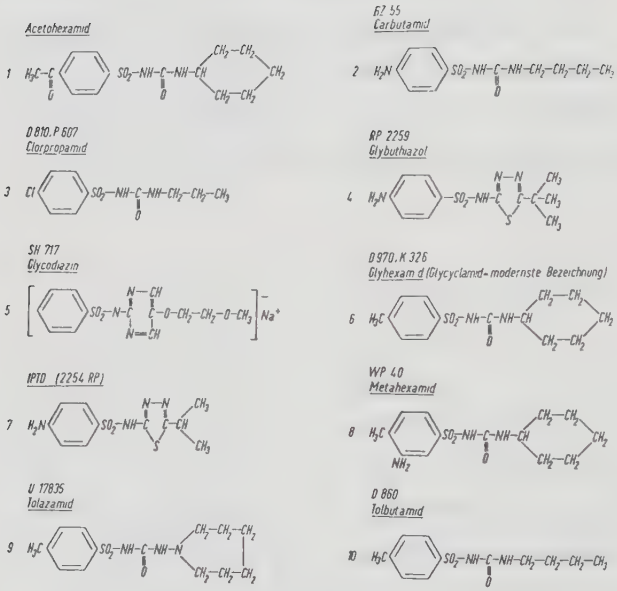

Acetohexamid
Carbutamid
D 810. P 607
Clorpropamid
RP 2259
Glybuthazol
SH 717
Glycodiazin
D 970. K 326
Glyhexam d (Glycyclamid- modernste Bezeichnung)
IPTD (2254 RP)
WP 40
Metahexamid
U 17835
Tolazamid
D 860
Tolbutamid

Abb. 1

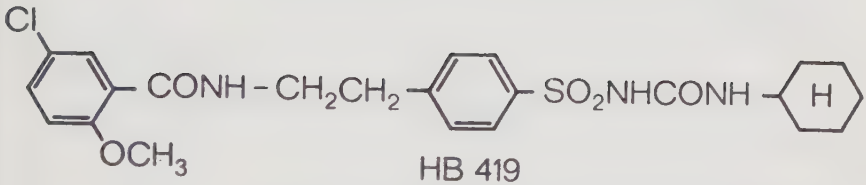
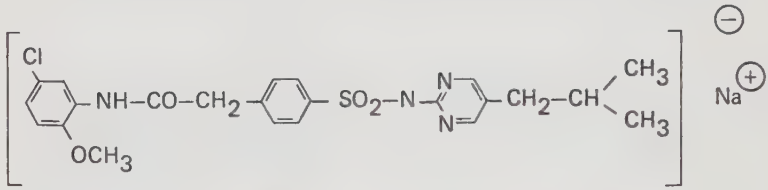
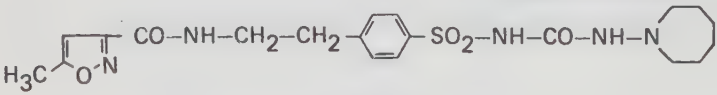


Abb. 2



4– [N–(5–Isobutyl–2–pyrimidinyl)–sulfamoyl] –
phenylessigsäure–5–chlor–2–methoxy–anilid, Na–Salz

Glydanil–Natrium



4-(4ß–5–Methylisoxazolyl–(3)–carbonamido–
äthylbenzolsulfonyl–1,1–hexamethylen–semicarbazid)

Glisoxamid

Abb. 3

2. METHODIK

2.1 Tiermaterial

Die Versuche wurden an folgenden, in der Tabelle 1 angegebenen Tierarten durchgeführt:

Tabelle 1

Versuchstiere	Geschlecht	Gewicht (g)	Stamm	Züchter	Futter
Ratten	♂	90-150	Wistar (SPF)	Gassner	Altromin-R
Mäuse	♂	20- 25	NMRI (konventionell)	Schering	Sniff-Plange
Chin. Streifenhamster	♂ + ♀	35- 50	stoffwechselgesunde u. spontandiab. Tiere	Schering	Mischfutter (Frischgemüse, Sonnenblumenkerne, Haferflocken)
Meerschweinchen	♂+ ♀	210-250	Pear. - bright (konventionell)	Wauschkuhn	Altromin-MS Frischfutter
Kaninchen	♂	2,5- 4kg	Hasenkaninchen	Wulf	Altromin-K
Hunde	♂	9-16 kg	Beagle	Schering	Altromin-H

Als Trinkflüssigkeit erhielten die Tiere Leitungswasser ad libitum. Das Futter (s.Tab. 1) wurde ihnen zu verschiedenen Zeiten vor Versuchsbeginn entzogen. Einzelheiten hierüber sind bei der Beschreibung der Versuchsanordnungen aufgeführt.

2.2 Verwendete Substanzen :

2.2.1 Glymidin-Natrium und

2.2.2 Glydanil-Natrium (Schering AG.,Berlin) wurden zur oralen Applikation in entionisiertem Wasser, zur intravenösen oder subcutanen Injektion in physiologischer Kochsalzlösung gelöst.

2.2.3 Glisoxamid (Farbenfabriken Bayer AG., Leverkusen) lag als reine Säure vor und wurde durch Zugabe einer äquivalenten Menge Natronlauge in Lösung gebracht.

Da Glydanil-Natrium bei neutralem oder saurem pH nicht stabil in Lösung bleibt, wurde für alle verwendeten Substanzen ein leicht alkalisches Milieu (pH 9,5) gewählt. Die Kontrolltiere erhielten das jeweilige Lösungsmittel.

Bei den Versuchen zum Wirkungsmechanismus der drei Sulfonamide wurden außerdem folgende Substanzen verwendet und in der angegebenen Weise gelöst :

2.2.4 Diazoxid (7-Chlor- 3-methyl -1,2,4 - benzothiadiazin -1,1 - dioxyd, Schering Corp., Bloomfield, N.J., USA) : in alkalischer Kochsalzlösung (pH 11,0).

2.2.5 Theophyllin (1,3- Dimethylxanthin, E.Merck AG., Darmstadt) : als Tartrat in physiologischer Natriumchloridlösung (leicht erwärmt).

2.2.6 Phentolaminhydrochlorid (2- N-p-tolyl-N-m-hydroxyphenyl-aminomethyl)- imidazolin-hydrochlorid, Regitin ^{R}, Ciba AG., Basel, Schweiz): in physiologischer Kochsalzlösung.

2.2.7 Methylphenoxyisopropylaminopropanol (Kö 592, C.H.Boehringer und Sohn, Ingelheim) : in 0,9% iger Natriumchloridlösung.

2.2.8 Streptozotocin (Antibiotikum aus Streptomyces aromogenes Upjohn Comp., Kalamazo, Mich.U.S.A.) : in physiologischer Kochsalzlösung (pH 4,5) .

Die applizierten Volumina betrugen bei:

Ratten:	10,0 ml/kg (i.v.)
Mäusen:	25,0 ml/kg (p.o.)
Hamstern:	5,0 ml/kg (p.o.)
Meerschweinchen:	5,0 ml/kg (s.c.)
Kaninchen:	1,0 ml/kg (p.o.)
Hunden:	0,6 ml/kg (i.v.)

Zur oralen Applikation bei Hunden wurden die Reinsubstanzen oder Placebo (Maisstärke) in nicht magensaftresistenten Gelatinekapseln gegeben.

2.3. Versuchsanordnungen :

2.3.1 Ratten:

2.3.1.1 Zur Untersuchung von Zeit- und Dosisabhängigkeit der insulinfreisetzenden und blutzuckersenkenden Wirkung der drei Sulfonamide wurden Kollektive von zweihundert Ratten untersucht, denen sechzehn Stunden vor Versuchsbeginn das Futter entzogen worden war. Die Tiere wurden in Gruppen zu je fünfzehn Ratten eingeteilt und zunächst narkotisiert.

(Äthyl-butyl-thio-barbitalum, Inactin ^{R}, Chem. Fabrik Promonta GmbH., Hamburg, 60 mg/kg i.p.). Nach i.v. Injektion verschiedener Dosen der Testsubstanzen in die Schwanzvene erfolgte bei jeder Versuchsreihe zu einer anderen Zeit (5,15,30,45,60,120,240,360 Minuten und 16 Stunden) die Blutentnahme zur Glucose- und Seruminsulinbestimmung aus der Pfortader. Das Gefäß wurde nach Eröffnung der Bauchhöhle mit einer scharf angeschliffenen S-förmig gebogenen Kanüle, die mit einem PVC-Schlauch verbunden war, punktiert. Diese Technik wurde deshalb gewählt, da in vivo eine Stimulierung der Insulinfreisetzung in diesem der Bauchspeicheldrüse unmittelbar nachgeschalteten Gefäß am besten nachgewiesen werden kann.

2.3.1.2 Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus wurden unter den gleichen Versuchsbedingungen vorgenommen. Die Punktion der Pfortader erfolgte jeweils fünfzehn Minuten nach Injektion der Sulfonamide. Der Zeitpunkt der Verabreichung von Diazoxid, Theophyllin, Phentolaminhydrochlorid, Methylphenoxyisopropalaminopropanol und Streptozotocin ist den beigefügten Tabellen zu entnehmen. In einigen Fällen wurde die Verstärkung der insulinfreisetzenden Wirkung von Glucose durch Glymidin-Natrium, Glydanil-Natrium und Glisoxamid studiert. Bei diesen Versuchen erfolgte die Injektion der Glucose (2g/kg, i.v.) entweder eine Stunde nach Gabe der drei Verbindungen oder mit diesen gemeinsam. Fünfzehn Minuten nach Applikation des Zuckers wurde Blut entnommen.

Zur Prüfung einer Beeinflussung des Insulinstoffwechsels in der Leber wurde Blut durch Punktion der Pfortader sowie des retrobulbären Venenplexus mit einer spitz ausgezogenen, scharf angeschliffenen Glaspipette entnommen (HALPERN und PACAUD, 1951). Der Zeitpunkt der Blutabnahmen ist der entsprechenden Tabelle zu entnehmen.

2.3.1.3 Versuche an adrenalektomierten Ratten wurden vierundzwanzig Stunden nach Entfernung der Nebennieren durchgeführt. Als Trinkflüssigkeit erhielten die Tiere physiologische Kochsalzlösung. Inaktin wurde in einer geringeren Dosis (40 mg/kg) verabreicht, die übrigen Versuchsbedingungen änderten sich nicht.

2.3.1.4 Zur Erzeugung eines Diabetes mellitus erhielten die Ratten zwei Tage vor Beginn der eigentlichen Experimente 100 mg/kg Streptozotocin i.v. injiziert. Außer einer Reduktion der Inaktinnarkose (45 mg/kg) wurden keine Änderungen an der Versuchsordnung vorgenommen.

2.3.1.5 Um den zeitlichen Verlauf einer gesteigerten Insulinfreisetzung am gleichen Tier verfolgen zu können, wurden Experimente an 160 bis 220 g schweren Ratten durchgeführt. In Inaktinnarkose (60 mg/kg) wurde in die vena porta ein T-förmiger Katheter eingeführt und fixiert, der einmal die ungestörte Passage des Pfortaderblutes ermöglichte und zum anderen die Blutabnahme über einen mit dem Katheter verbundenen PVC-Schlauch aus diesem Gefäß erlaubte. Nach Entnahme eines Vorwertes wurde die Testsubstanz in die Schwanz-

vene injiziert. Weitere Abnahmen erfolgten in Zeitabständen von 1,3,5,10,15,20,30,45 und 60 Minuten. Um einem zu großen Blutverlust vorzubeugen, wurde nach jeder Blutentnahme eine gleich große Menge heparinisierten Blutes einer unbehandelten Spenderratte infundiert.

2.3.2 Mäuse:

Sechzehn Stunden nüchterne Mäuse wurden in Gruppen zu je 16 - 20 Tieren untersucht. Die Applikation der Testsubstanzen erfolgte durch eine Schlundsonde. Blut zur Bestimmung der Glucose und Seruminsulinkonzentrationen wurde nach 30,60, 120 oder 240 Minuten durch Dekapitation gewonnen. Mehrere Blutabnahmen am gleichen Tier (Punktion des retrobulbären Venenplexus) sind nicht möglich, da Mäuse infolge ihres geringen Blutvolumens auf einen Entzug von Blutmengen, wie sie für die hier durchgeführten Bestimmungen nötig waren, mit einer Steigerung der Glucosekonzentration im Blut wahrscheinlich auf Grund einer Catecholaminausschüttung reagieren.

2.3.3 Hamster:

Die Versuche wurden an stoffwechselgesunden und diabetischen chinesischen Streifenhamstern durchgeführt. Die Kontrolle des Stoffwechselzustandes erfolgte durch wöchentliche Prüfung der Nüchternharnzuckerausscheidung (Glucosetest ^{R}, Boehringer-Mannheim G.m.b.H.). Tiere, die nie einen pathologischen Befund aufwiesen, wurden als gesund betrachtet und mit gleichaltrigen Hamstern verglichen, die seit dem ersten Auftreten einer messbaren Harnzuckerausscheidung stets einen positiven

Befund zeigten. Sechzehn Stunden vor Versuchsbeginn wurde den Tieren das Futter entzogen, ausserdem wurden sie in Einzelkäfige gesetzt. Dieses Verfahren war notwendig, da Streifenhamster sehr aggressiv sind und Tiere angreifen, an die sie nicht seit ihrer Geburt gewöhnt sind.
Je 14 - 16 Hamster wurden in eine Gruppe eingeteilt. Sie erhielten die Testsubstanzen durch eine Schlundsonde. 30 oder 60 Minuten danach erfolgte die Blutentnahme zur Glucose - und Seruminsulinbestimmung durch Punktion des retrobulbären Venenplexus. Aus den gleichen Gründen, die schon bei der Versuchsanordnung für Mäuse erwähnt wurde, konnten auch bei den Streifenhamstern jedem Tier nur einmal Blut entnommen werden.

2.3.4 Meerschweinchen:

Experimente an Meerschweinchen wurden nach sechzehnstündiger Nüchternheit vorgenommen. Je sechs Tiere erhielten die gleiche Dosis einer Testsubstanz s.c. injiziert. Vor, sowie 90 und 180 Minuten nach der Behandlung wurde Blut durch Punktion des retrobulbären Venenplexus gewonnen und die Blutglucose bestimmt. Eine radioimmunologische Insulinbestimmung ist bei dieser Tierart nicht möglich, da es bisher nicht gelungen ist, Antikörper gegen Meerschweincheninsulin zu erzeugen.

2.3.5 Kaninchen:

Nach vierundzwanzigstündigem Futterentzug wurden Kaninchen in Gruppen zu je fünf Tieren eingeteilt. Nach einer initialen

Blutabnahme aus der Ohrrandvene zur Ermittlung von Vorwerten erhielten die Tiere die Testsubstanzen durch eine Schlundsonde. 30,60,120,180,240,360 Minuten und 16 Stunden danach folgten weitere Blutabnahmen aus diesem Gefäß zur Glucose- und Seruminsulinbestimmung.

2.3.6 Hunde:

Die Substanzen wurden an Hunden in vier verschiedenen Versuchsanordnungen untersucht. Die Tiere waren zu Beginn der Experimente vierundzwanzig Stunden nüchtern. Während der Dauer einer Versuchsreihe wurden sie in Einzelkäfigen gehalten.

2.3.6.1 Die Prüfung der Zeit- und Dosisabhängigkeit des blutzuckersenkenden und insulinfreisetzenden Effektes erfolgte nach intravenöser Injektion der Testsubstanzen. Insgesamt wurden die Experimente an fünfzehn Hunden durchgeführt, die abwechselnd in sechs Versuchsreihen zehn verschiedene Dosen erhielten (3 Dosen pro Substanz, eine Kontrollgruppe). Auf Grund dieser inkompletten Blockanordnung (COCHRAN und COX, 1957) ergaben sich Gruppen zu je neun Tieren. Zwischen zwei Versuchen wurde eine Pause von mindestens einer Woche eingehalten. Die Substanzen wurden in die vena cephalica antebrachii injiziert. Vor, sowie 5,15,30,45,60,90,120,180, 240 und 360 Minuten post injectionem erfolgten Blutabnahmen zur Glucose- und Seruminsulinbestimmung aus dem gleichen Gefäß.

2.3.6.2 Zur Prüfung der oralen Wirksamkeit je einer Dosis der drei Substanzen wurden zwanzig Hunde in Gruppen zu fünf

Tieren untersucht. Nach Abnahme eines Vorwertes erhielten die Tiere die Substanzen per os in Gelatinekapseln (Zwangsfütterung). Es folgten weitere Blutabnahmen jeweils 1/2,1,2,3,4,6 und 16 Stunden nach der Behandlung.

2.3.6.3 Zum Nachweis einer direkten Stimulierung der ß - Zellen wurde nach intravenöser Injektion der Testsubstanzen an je einem Hund im Vergleich zu einem Kontrolltier die Insulinkonzentration im Pankreasvenenblut gemessen. In Nembutalnarkose (Nembutal R, Deutsche Abbot G.m.b.H., Ingelheim) (8-10 ml/Tier) wurde ein PVC- Katheter (ein der Stärke des Gefäßes entsprechender PVC-Schlauch) in einen Ast der vena pancretica-duodenalis eingelegt und daraus sowohl vor Applikation der Testsubstanz (i.v. Injektion in die vena cephalica antebrachii) als auch 1,3,5,10,20, 30,45 und 60 Minuten danach Blut zur Insulinbestimmung entnommen. Anschliessend wurden die Hunde pankreatektomiert und für weitere Experimente zur Untersuchung möglicher extrapankreatischer Effekte der drei Sulfonamide verwendet. Nach der Operation wurden die Hunde unter laufender Kontrolle der Blutzuckerkonzentrationen zunächst mit Alt - Insulin, später mit Depot-Insulin behandelt. Die Dosierung (1-8 IE) richtete sich nach der Höhe des jeweiligen Glucosespiegels. Zur Substitution der Verdauungsfermente erhielten sie 8 Tabl./ Tag Panzynorm R (Nordmark G.m.b.H., Hamburg).

Sechs Tage post operationem wurden an jedem Tier alle Substanzen in höherer Dosierung im Abstand von fünf Tagen auf

eine Beeinflussung der Glucosekonzentration im Blut und der radioimmunologischen Insulinaktivität im Serum untersucht. Die Versuche erfolgten nach vierundzwanzigstündigem Futter- und Insulinentzug. Nach einer initialen Blutentnahme zur Ermittlung von Ausgangswerten wurden die Substanzen i.v. injiziert (vena cephalica antebrachii).1,3,5,10,15, 20,30,45,60 und 120 Minuten danach erfolgten weitere Blutabnahmen.

2.4 Blutglucose und Seruminsulinbestimmung.

Das Blut wurde in 7 ml-Zentrifugengläsern aufgefangen, sofort 0,1 ml entnommen und in 1ml Uranylacetat enteiweißt. Nach Zentrifugation wurde im Überstand die Glucosekonzentration bestimmt. Das restliche Blut wurde ebenfalls zentrifugiert (3000 U/min., Zimmertemperatur), das Serum anschließend abpipettiert und zur Insulinbestimmung weiterverarbeitet.

2.4.1 Glucosebestimmung im Blut :

Die Bestimmung der Blutglucose erfolgte in Anlehnung an die Methode von Huggett und Nixon (1957).

Prinzip:

Das Enzym Glucose-Oxydase katalysiert die Oxydation von ß - D - Glucose zu Gluconlacton, das mit Wasser zu Gluconsäure und Wasserstoffperoxyd umgesetzt wird. Wasserstoffperoxyd oxydiert unter enzymatischer Katalyse der Peroxydase o-Dianisidin, einen Wasserstoffdonator, der in einen rotbraunen Farbstoff übergeht. Die Reaktionen verlaufen

quantitativ, die gebildete Farbstoffmenge ist also ein Maß für die umgesetzte Glucose. Die Intensität des Farbstoffes wurde bei 436 mμ mit einem Spektrophotometer der Firma Beckmann gemessen. Die Glucosekonzentration wurde in mg% angegeben.

2.4.2 Insulinbestimmung im Serum:

Die Bestimmung der Insulinkonzentration im Serum der verschiedenen Tierarten erfolgte nach der Methode von Morgan und Lazarow (1962, 1963) , sowie Morgan, Lazarow und Sorenson (1964).

Das Prinzip der radioimmunologischen Insulinbestimmung beruht auf einer Bindung des Hormons an einen spezifischen Antikörper und einer nachfolgenden Präzipitation dieses löslichen Antigen-Antikörperkomplexes durch einen gegen das Antiinsulin gerichteten zweiten Antikörper. Da radioaktiv markiertes Insulin (^{125}J-Insulin) in gleicher Weise vom spezifischen Antikörper gebunden wird wie unmarkiertes Hormon, ist es möglich, durch Variation der Konzentration an nicht markiertem Insulin im Inkubationsansatz den Prozentsatz an ^{125} J-Insulin zu beeinflussen, der bei gleicher Konzentration des markierten Hormons durch eine bestimmte Menge von Antikörpern gebunden wird. Bei geringer Konzentration von unmarkiertem Insulin wird viel ^{125} J-Insulin gebunden, steigert man den Gehalt an inaktivem Hormon, nimmt der Prozentsatz des markierten Insulins, der durch den Antikörper gebunden wird , ab.

Da sowohl Ratten- und Mäuse-, als auch Hunde- und Hamsterin-

sulin mit Antikörpern reagiert, die spezifisch gegen Rinderinsulin gerichtet sind, ist es möglich, die Insuline dieser Tierarten unter Verwendung von ^{125}J-Rinderinsulin, einem Anti-Rinderinsulinserum und kristallinem Rinderinsulin als Eichsubstanz zu bestimmen. Die Antikörper werden durch Immunisierung von Meerschweinchen mit Rinderinsulin erzeugt. Zur Präzipitation des löslichen Antigen-Antikörperkomplexes verwendet man ein zweites Antiserum, das durch Immunisierung von Kaninchen gegen Meerschweinchenserum gewonnen wird.

Zur Insulinbestimmung wurden 0,1 ml Serum mit einem o,13 molaren Boratpuffer (pH 7,4) auf das fünffache verdünnt und anschließend 50 µl (entspr.: 2,7 µE, 5 µCi) ^{125}J-Insulin (Radiochemical Centre, Amersham, England) und 100 µl Insulin-Antiserum (Verdünnung 1 : 6000) (eigene Herstellung) zugefügt. In gleicher Weise wurde eine Rinderinsulin-Eichreihe behandelt, deren Konzentration zwischen 0 und 512 µE/ml betrug. Nach einer Inkubationszeit von vierundzwanzig Stunden bei 4° C wurden 50 µl Antimeerschweinchenserum (eigene Herstellung) und 50 µl normales Meerschweinchenserum (Verdünnung 1 : 200) hinzupipettiert. Alle Arbeitsgänge erfolgten bis zu diesem Schritt im Eisbad. Im Verlauf von weiteren vierundzwanzig Stunden bei 4° C hatte sich ein dichtes Präzipitat gebildet, das den Insulin-Antiinsulinkomplex enthielt. Nach Zentrifugation (3000 U/min, Zimmertemperatur) wurde der Überstand dekantiert, anschließend das Präzipitat mit Boratpuffer gewaschen und erneut zentrifugiert. Die Waschflüssig-

keit wurde dem Überstand hinzugefügt. In beiden Fraktionen (Präzipitat und Überstand) wurde die Radioaktivität mit einem Auto - γ - Szintilationszähler der Firma Nuclear Chicago gemessen und die im Präzipitat gebundene Radioaktivität als Prozentsatz der Gesamtaktivität errechnet. Durch Auftragen der gebundenen Radioaktivität der Eichwerte gegenüber der eingesetzten Insulinkonzentration ergab sich eine Eichkurve, von der der Insulingehalt der Versuchsproben abgelesen werden konnte. Unter Berücksichtigung des Verdünnungseffektes wurde die Insulinkonzentration im Serum in μE/ml angegeben.

2.5 Statistik:

Zur statistischen Auswertung wurden die arithmetischen Mittelwerte ($\bar{x}$) sowie die Standardabweichungen der Einzelwerte (s) und der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$) nach folgenden Formeln berechnet:

1. $$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

2. $$s = \sqrt{\frac{\sum x^2 - \bar{x}\sum x}{n - 1}}$$

3. $$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Auf den Tabellen und Abbildungen sind die Mittelwerte mit ihren Standardabweichungen angegeben. Zum Nachweis signifikanter Unterschiede wurde nicht der üblicherweise

verwendete T - Test benutzt, da in einigen Fällen die Streuung der zu vergleichenden Gruppen stark differierte und unter diesen Umständen eine Berechnung nach diesem Verfahren nicht erfolgen darf. Um zu vergleichbaren Resultaten zu gelangen, wurden daher bei allen Versuchen die Signifikanzen nach dem U - Test berechnet (WEBER, 1967). Dieses Verfahren erlaubt den Vergleich von Gruppen mit unterschiedlicher Verteilung.

Zur Beurteilung statistisch signifikanter Unterschiede zwischen Zeitwirkungskurven wurden in einigen Fällen Analysen nach dem Verfahren von Koller (auf den entsprechenden Abbildungen als " Koller-Lorenz - Tabelle " bezeichnet) durchgeführt (KOLLER, 1955 ; WINNE, 1967) .

Die Berechnung der Wirkungsunterschiede zwischen den Substanzen erfolgte nach den Angaben von CAVALLI - SFORZA (1969) , entweder als Wertbemessung mittels paralleler Wirkungsgeraden oder auf Grund der Steigungen der verschiedenen Wirkungsgeraden. Die erste Methode kann dann angewendet werden, wenn die Wirkung eine lineare Funktion des Logarithmus der Dosis ist und die Wirkungsgeraden zweier zu vergleichender Substanzen parallel verlaufen. Der Abstand beider Geraden gibt den Unterschied in der relativen Wirksamkeit an. Verlaufen beide Geraden nicht parallel, so ist ein Vergleich auf diese Weise nicht möglich, da sich die Wirkungsunterschiede mit Zu- oder Abnahme der Dosen ändern. In diesem Fall kann man versuchen, die Wirkungen gegenüber der Dosis in linearem Maßstab aufzutragen und aus dem unterschiedlichen Anstieg beider Geraden vom Schnittpunkt auf der Ordinate (Dosis 0) Rückschlüsse auf die Wirkungsunterschiede

zu ziehen. Voraussetzung hierfür ist allerdings, daß die Wirkungskurven für einen genügend grossen Dosisbereich linear sind.

Die Berechnungen wurden mit einer elektronischen Rechenmaschine (Ty IBM 360) nach den ausgearbeiteten Rechenprogrammen durchgeführt (Programm " Vergleich paralleler Dosiswirkungsgeraden " oder Programm " Vergleich nicht paralleler Dosiswirkungsgeraden ").

3. E R G E B N I S S E

3.1 Nachweis der blutzuckersenkenden und insulinfreisetzenden Wirkung von GLYMIDIN-NATRIUM, GLYDANIL-NATRIUM und GLISOXAMID.

3.1.1 Einfluß auf die Glucosekonzentration im Blut und die Insulinkonzentration im Serum des peripheren Venenblutes bei Meerschweinchen, Mäusen, Kaninchen und Hunden.

Zunächst wurde bei verschiedenen Tierarten geprüft, ob die beiden neuen Substanzen in gleicher Weise wie Glymidin-Natrium die Blutzuckerkonzentration erniedrigen und welche Dosen hierzu notwendig sind. Zugleich wurde untersucht, ob der blutzuckersenkende Effekt mit einem Anstieg des Seruminsulins einhergeht.

3.1.1.1 M E E R S C H W E I N C H E N.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in den Tab.2,3,4 u.5 und den Abb. 4,5,6 dargestellt.
Alle drei Substanzen führten zu einer dosis- und zeitabhängigen Senkung der Glucosekonzentration im Blut. Mit der niedrigsten Dosis von Glymidin-Natrium (3,9 mg/kg) wurde nach 90 Minuten noch keine signifikante Blutzuckersenkung gemessen. Die stärkste Erniedrigung der Blutglucose wurde nach Gabe von 62,5 bzw. 250 mg/kg beobachtet. Glydanil-Natrium war zum gleichen Zeitpunkt bereits in einer Dosis von 0,25 mg/kg wirksam. Der stärkste Effekt wurde mit 1 oder 4 mg/kg erreicht. Dagegen hatten 0,25 und 1 mg/kg Glisoxamid nach 90 Minuten keine signifikante Erniedri-

gung der Glucosekonzentration zur Folge. 4 mg/kg waren wirksam, mit 16 mg/kg wurde der Maximaleffekt erzielt.
Die Wirkungsdauer der drei Substanzen war unterschiedlich. Während nach 180 Minuten unter dem Einfluß von Glisoxamid selbst nach Gaben von 16 mg/kg nur noch eine Erniedrigung der Blutglucose um etwa 16% gemessen wurde , war nach Injektion der beiden anderen Substanzen in der jeweils höchsten Dosierung die Glucosekonzentration noch ungefähr um 30% gegenüber dem Ausgangswert erniedrigt.

Die Berechnung der relativen Wirksamkeiten ergab, daß Glydanil-Natrium 90 Minuten post injectionem mit einer 50 - 60 fach geringeren Dosis den gleichen Effekt erzielte wie Glymidin-Natrium. Glisoxamid hatte eine etwa 4 fach geringere Wirksamkeit als Glydanil-Natrium.
Infolge der kürzeren Wirkungsdauer von Glisoxamid hatte die relative Wirksamkeit dieser Substanz im Vergleich zu Glydanil-Natrium nach drei Stunden abgenommen. Zu diesem Zeitpunkt betrug das Verhältnis der äquieffektiven Dosen zwischen Glymidin- Natrium und Glydanil-Natrium 13,2 : 1 und zwischen Glisoxamid und Glydanil-Natrium etwa 10 : 1.

Die Ergebnisse zeigen, daß beide neuen Sulfonamide bei Meerschweinchen die Glucosekonzentration in geringeren Dosen erniedrigen als Glymidin-Natrium, wobei jedoch der maximale Effekt dieser Verbindung nicht übertroffen wird. Die Wirkung von Glydanil-Natrium hält etwas, der Effekt von Glisoxamid erheblich kürzer an, als die nach Injektion von Glymidin-Natrium auftre-

tende Blutzuckersenkung. Ob die blutzuckersenkende Wirkung der drei Substanzen bei dieser Tierart mit einer Steigerung des Seruminsulins einhergeht, konnte nicht untersucht werden, da eine radioimmunologische Bestimmung von Meerschweinchen-insulin bisher nicht möglich ist (s. Methodik).

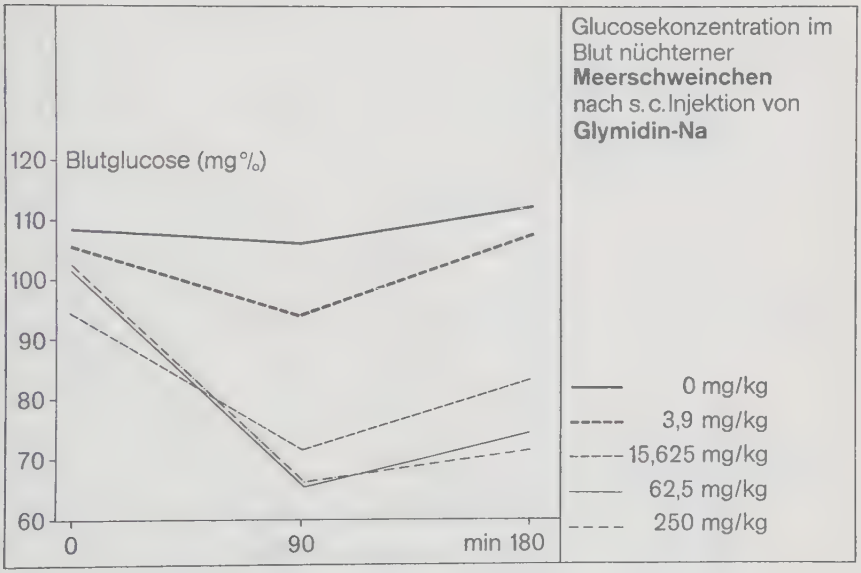

Glucosekonzentration im Blut nüchterner **Meerschweinchen** nach s.c. Injektion von **Glymidin-Na**
Blutglucose (mg%)
120
110
100
90
80
70
60
0
90
min 180
0 mg/kg
3,9 mg/kg
15,625 mg/kg
62,5 mg/kg
250 mg/kg

Abb- 4

Glucosekonzentration im Blut (mg%) nüchterner Meerschweinchen zu verschiedenen Zeiten nach subcutaner Injektion von Glymidin-Na. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test: - = $p > 0,05$; + = $p < 0,05$; ++ = $p < 0,02$. (n = 6 Tiere/Gruppe)

Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen	0 Min.	90 Min.	180 Min.
0		108,9±5,6	106,0±5,8	112,0±3,3
3,9		105,6±3,5	93,6±3,7	107,4±3,8
	0	-	-	-
15,63		94,6±4,6	71,4±1,6	83,0±5,8
	0	-	++	++
	3,9	-	++	++
62,5		101,6±3,3	65,1±6,2	74,2±5,1
	0	-	++	++
	3,9	-	++	++
	15,63	-	-	-
250,0		102,8±2,6	65,4±6,5	71,4±9,8
	0	-	++	++
	3,9	-	+	+
	15,63	-	-	-
	62,5	-	-	-

Tab. 2

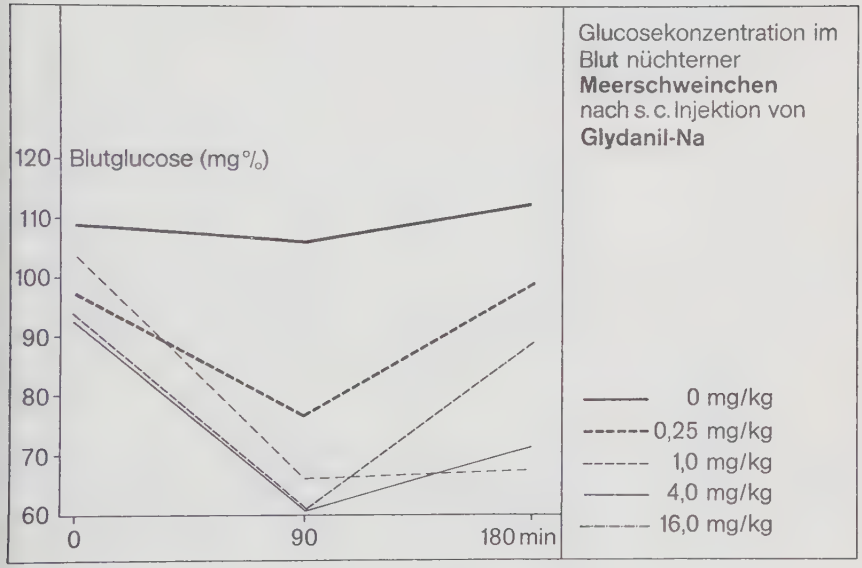

Glucosekonzentration im Blut nüchterner **Meerschweinchen** nach s. c. Injektion von **Glydanil-Na**
Blutglucose (mg%)
120
110
100
90
80
70
60
0
90
180 min
0 mg/kg
0,25 mg/kg
1,0 mg/kg
4,0 mg/kg
16,0 mg/kg

Abb. 5

Glucosekonzentration im Blut (mg%) nüchterner Meerschweinchen zu verschiedenen Zeiten nach subcutaner Injektion von Glydanil-natrium. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test: - = $p > 0,05$; + = $p < 0,05$; ++ = $p < 0,02$. (n = 6 Tiere/Gruppe)

Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen:	0 Min.	90 Min.	180 Min.
0		108,9± 5,6	106,0±5,0	112,0±3,3
0,25		97,6± 4,8	76,8±3,2	98,9±2,1
	0	-	++	+
1,0		93,4± 2,3	60,4±4,3	83,4±3,4
	0	-	++	++
	0,25	-	+	+
4,0		92,8± 6,1	60,4±8,8	71,3±7,6
	0	-	++	++
	0,25	-	-	++
	1,0	-	-	-
16,0		103,7±10,8	65,6±3,9	67,8±5,7
	0	-	++	++
	0,25	-	-	++
	1,0	-	-	-
	4,0	-	-	-

Tab. 3

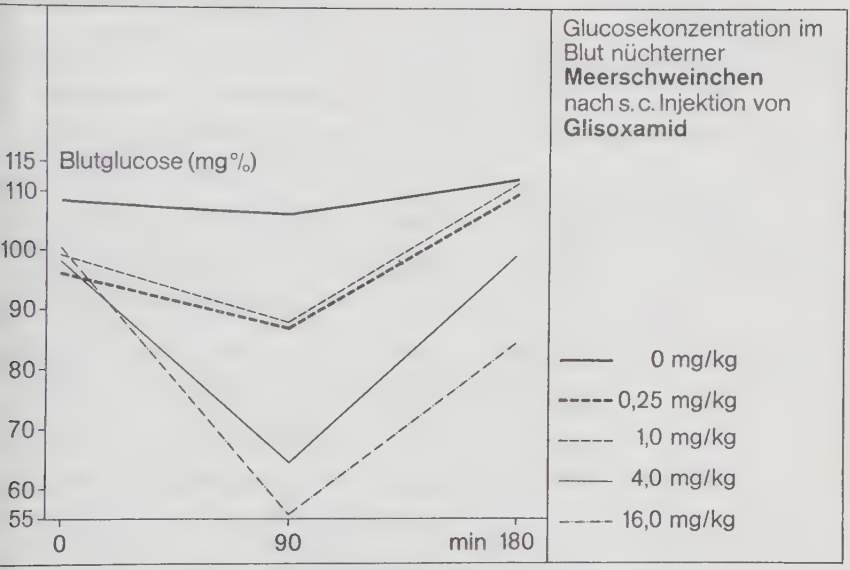

Glucosekonzentration im Blut nüchterner **Meerschweinchen** nach s. c. Injektion von **Glisoxamid**
Blutglucose (mg %)
115
110
100
90
80
70
60
55
0
90
min 180
0 mg/kg
0,25 mg/kg
1,0 mg/kg
4,0 mg/kg
16,0 mg/kg

Abb. 6

Glucosekonzentration im Blut (mg%) nüchterner Meerschweinchen zu verschiedenen Zeiten nach subcutaner Injektion von Glisoxamid. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test: - = $p > 0,05$; + = $p < 0,05$; ++ = $p < 0,02$. (n = 6 Tiere/Gruppe)

Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen:	0 Min.	90 Min.	180 Min.
0		108,9±5,6	106,0±5,8	112,0±3,3
0,25		96,5±3,7	87,0±5,2	109,1±3,9
	0	-	-	-
1,0		99,2±3,4	88,1±5,5	111,1±7,9
	0	-	-	-
	0,25	-	-	-
4,0		98,3±2,2	64,3±5,7	99,3±4,3
	0	-	++	+
	0,25	-	++	-
	1,0	-	-	-
16,0		100,5±3,7	55,8±5,1	84,3±2,5
	0	-	++	++
	0,25	-	++	++
	1,0	-	++	++
	4,0	-	-	+

Tab. 4

Blutzuckersenkende Wirkung von Glymidin-Na, Glydanil-Na und Glisoxamid bei nüchternen Meerschweinchen nach subcutaner Injektion. Angegeben sind die Wirkungsunterschiede (Titer) gegenüber dem jeweiligen Testpräparat mit den 95%-Vertrauensgrenzen

Vergleichs-präparat	Test-präparat	Auswertung nach dem Programm "Vergleich paralleler Dosis-wirkungsgeraden"	
Dimension:	Prozent des Ausgangswertes	90 Minuten	180 Minuten
Glymidin-Na	Glydanil-Na	53,6 (23,0 - 161,5)	13,2 (4,8 - 34,7)
Glymidin-Na	Glisoxamid	11,5 (5,9 - 23,4)	1,3 (0,3 - 3,5)
Glydanil-Na	Glisoxamid	0,23(0,11- 0,47)	0,11(0,04 - 0,25)
Dimension:	mg%		
Glymidin-Na	Glydanil-Na	65,2 (32,8 - 161,6)	20,3 (6,7 - 64,3)
Glymidin-Na	Glisoxamid	10,9 (4,5 - 28,4)	1,5 (0,26 - 4,6)
Glydanil-Na	Glisoxamid	0,14 (0,04 - 0,38)	0,07(0,018 - 0,18)

Tab. 5

3.1.1.2 **M Ä U S E .**

3.1.1.2.1 Blutzuckersenkende Wirkung.

3.1.1.2.1.1 Glymidin-Natrium

Die niedrigste Dosis führte 60 Minuten nach Gabe der Substan zu einer Senkung des Blutzuckers auf 80%. Der maximale Effe zu der gleichen Zeit wurde mit 62,5 mg/kg erreicht und betru 75%. Eine Steigerung der Dosis hatte keinen weiteren Blutzuc abfall zur Folge. Nach 120 Minuten lagen die Blutzuckerkonze tionen im Verhältnis zu den Ausgangswerten noch etwas niedri Gegenüber den Kontrollen waren die Unterschiede jedoch nur nach Gabe von 62,5 oder 250 mg/kg signifikant, da bei diesem Experiment auch die Blutglucose der unbehandelten Mäuse abge sunken war (Tab. 6, Abb. 7) .

In einem zweiten Versuch (Tab.7 Abb.8) wurde der Verlauf d blutzuckersenkenden Wirkung bis zur vierten Stunde nach oral Applikation verfolgt. Während nach 240 Minuten die Blutgluc der Kontrollen noch weiter abgenommen hatte, kam es unter de Einfluß aller untersuchten Dosen von Glymidin-Natrium zwisc der 2. und 4. Stunde zu einem Anstieg der Blutglucose, in einigen Fällen wurden zu diesem Zeitpunkt nach Gabe von Glym Natrium signifikant höhere Werte als bei unbehandelten Tiere gemessen.

3.1.1.2.1.2 Glyoanil-Natrium

60 Minuten nach oraler Applikation der niedrigsten Dosis (0,25 mg/kg) war die Blutzuckerkonzentration gegenüber de Kontrollen noch nicht signifikant erniedrigt. Nach Gabe vo

1 , 4 oder 16 mg/kg wurden Senkungen der Blutglucose von etwa 30% des bei einem Kontrollkollektiv gemessenen Ausgangswertes beobachtet. Dieser Effekt war auch nach zwei Stunden noch nachweisbar. Allerdings wurden signifikante Unterschiede gegenüber unbehandelten Tieren zu diesem Zeitpunkt nur nach Gabe von 16 mg/kg beobachtet, da die Blutglucose der Kontrollen ebenfalls zwischen der 60. und 120. Minute abgenommen hatte (Tab.8, Abb.9)

Bei einer Prüfung der blutzuckersenkenden Wirkung von Glydanil-Natrium über einen längeren Zeitraum nach oraler Applikation (Tab. 9, Abb.10) zeigte sich, dass die Glucosekonzentration im Blut im Gegensatz zu den Versuchen mit Glymidin-Natrium auch nach 240 Minuten noch nicht wieder angestiegen war.

1.1.2.1.3 Glisoxamid

Im Gegensatz zu den beiden Sulfonylpyrimidinen führte Glisoxamid zu einem steileren und nur kürzere Zeit anhaltenden Blutzuckerabfall. 60 Minuten nach oraler Gabe aller Dosen wurden signifikante Erniedrigungen der Blutglucose gemessen. 0,25 mg/kg erniedrigten den Blutzucker um 22% gegenüber dem Vorwert, der maximale Effekt wurde mit einer Senkung auf 68% nach Gabe von 16 mg/kg beobachtet.

Im Laufe der zweiten Stunde nach Applikation der Substanz stieg die Blutglucose unter dem Einfluß aller verwendeten Dosen wieder an. Nach 120 Minuten wurden keine signifikanten Unterschiede mehr gegenüber den Kontrollen gemessen.

Auf Grund dieser Ergebnisse wurde auf eine weitere Untersuchung

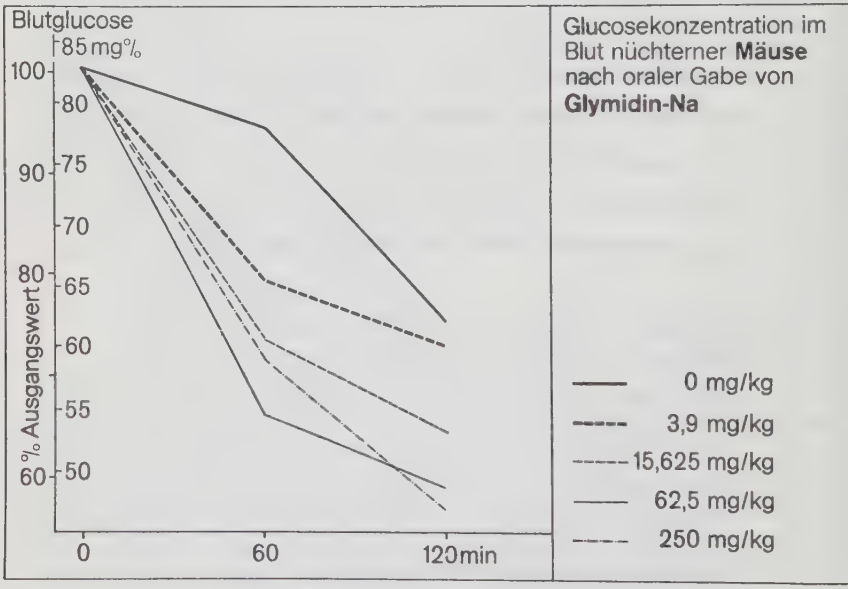

Blutglucose
85 mg%
100
80
90
75
70
80
65
60
55
60
50
% Ausgangswert
0
60
120 min
Glucosekonzentration im Blut nüchterner **Mäuse** nach oraler Gabe von **Glymidin-Na**
0 mg/kg
3,9 mg/kg
15,625 mg/kg
62,5 mg/kg
250 mg/kg

Abb. 7

Glucosekonzentration im Blut (mg%) nüchterner Mäuse nach oraler Gabe von Glymidin-Na. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test: - = $p > 0{,}05$; + = $p < 0{,}05$; ++ = $p < 0{,}02$. (n = 15 Tiere/Gruppe)

Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen mg/kg	Vorwert	60 Minuten	120 Minuten
0		82,5 ± 5,7	77,8 ± 4,6	62,1 ± 3,5
3,75			65,6 ± 1,7	60,1 ± 4,0
	0		+	-
15,0			60,9 ± 3,4	53,1 ± 3,1
	0		++	-
	3,75		-	-
62,5			54,5 ± 2,7	48,1 ± 1,7
	0		++	++
	3,75		++	++
	15,0		-	-
250,0			59,2 ± 2,4	46,9 ± 2,6
	0		++	++
	3,75		-	++
	15,0		-	-
	62,5		-	-

Tab. 6

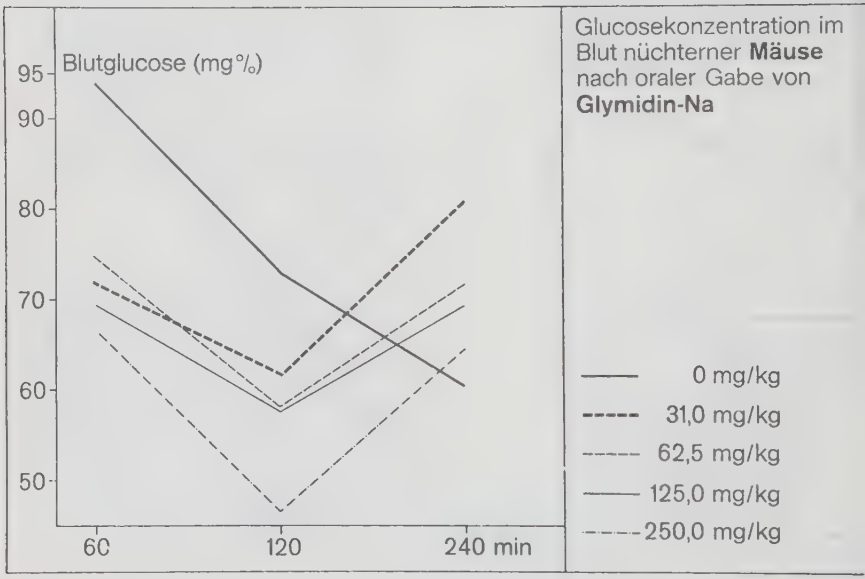

Blutglucose (mg%)
95
90
80
70
60
50
60
120
240 min
Glucosekonzentration im Blut nüchterner **Mäuse** nach oraler Gabe von **Glymidin-Na**
0 mg/kg
31,0 mg/kg
62,5 mg/kg
125,0 mg/kg
250,0 mg/kg

Abb. 8

Glucosekonzentration im Blut (mg%) nüchterner Mäuse zu verschiedenen Zeiten nach oraler Gabe von Glymidin-natrium. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test: – = $p > 0{,}05$; + = $p < 0{,}05$; ++ = $p < 0{,}02$. (n = 13 Tiere/Dosis und Zeit)

Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen:	60 Min.	120 Min.	240 Min.
0		93,0 ± 5,5	72,8 ± 3,2	60,3 ± 4,9
31,3		71,3 ± 3,6	61,6 ± 4,6	80,7 ± 4,3
	0	++	–	++
62,5		74,5 ± 3,7	55,0 ± 2,0	71,5 ± 4,2
	0	++	++	–
	31,3	–	–	–
125,0		69,3 ± 2,3	57,4 ± 2,9	69,0 ± 3,9
	0	++	++	–
	31,3	–	–	–
	62,5	–	–	–
250,0		66,4 ± 2,5	46,6 ± 2,0	73,0 ± 3,7
	0	++	++	++
	31,3	–	++	–
	62,5	–	++	–
	125,0	–	++	–

Tab. 7

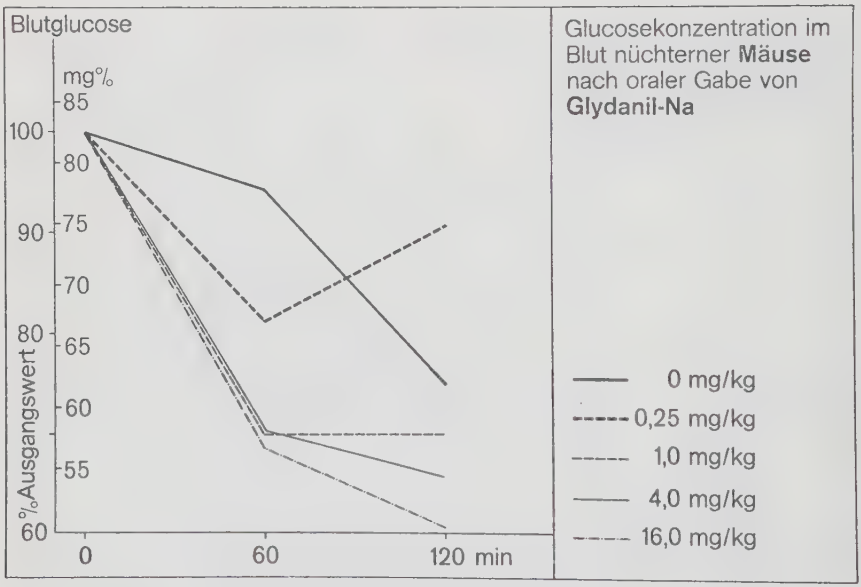

Blutglucose
mg%
85
100
80
75
90
70
80
65
60
55
60
%Ausgangswert
0
60
120 min
Glucosekonzentration im Blut nüchterner **Mäuse** nach oraler Gabe von **Glydanil-Na**
0 mg/kg
0,25 mg/kg
1,0 mg/kg
4,0 mg/kg
16,0 mg/kg

Abb. 9

Glucosekonzentration im Blut (mg%) nüchterner Mäuse nach oraler Gabe von Glydanil-Na. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test: - = $p > 0,05$; + = $p < 0,05$; ++ = $p < 0,02$. (n = 15 Tiere/Gruppe).

Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen mg/kg	Vorwert	60 Minuten	120 Minuten
0		82,5 ± 5,7	77,8 ± 4,6	62,1 ± 3,5
0,25			67,1 ± 2,6	74,9 ± 5,4
	0		-	-
1,0			57,8 ± 2,5	58,0 ± 2,9
	0		++	-
	0,25		++	+
4,0			58,1 ± 2,5	54,4 ± 2,3
	0		++	-
	0,25		+	++
	1,0		-	-
16,0			56,8 ± 3,4	50,1 ± 3,2
	0		++	++
	0,25		+	++
	1,0		-	-
	4,0		-	-

Tab. 8

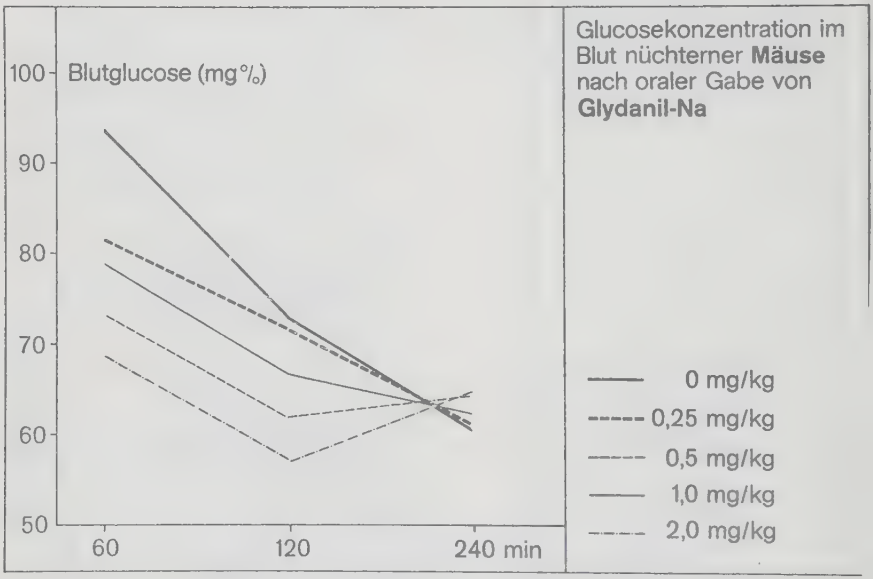

Blutglucose (mg%)
100
90
80
70
60
50
60
120
240 min
Glucosekonzentration im Blut nüchterner **Mäuse** nach oraler Gabe von **Glydanil-Na**
0 mg/kg
0,25 mg/kg
0,5 mg/kg
1,0 mg/kg
2,0 mg/kg

Abb. 10

Glucosekonzentration im Blut (mg%) nüchterner Mäuse zu verschiedenen Zeiten nach oraler Gabe von Glydanil-natrium. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung der Unterschiede erfolgte nach dem U-Test: - = $p > 0,05$; + = $p < 0,05$; ++ = $p < 0,02$. (n = 13 Tiere/Dosis und Zeit)

Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen:	60 Min.	120 Min.	240 Min.
0		93,8 ± 5,5	72,8 ± 3,2	60,3 ± 4,9
0,25		81,4 ± 4,2	71,6 ± 3,7	60,6 ± 4,3
	0	+	-	-
0,5		73,0 ± 3,3	61,5 ± 4,7	64,1 ± 4,5
	0	++	+	-
	0,25	-	-	-
1,0		78,8 ± 4,9	66,7 ± 3,2	62,1 ± 4,1
	0	-	-	-
	0,25	-	-	-
	0,5	-	-	-
2,0		68,6 ± 3,1	57,0 ± 2,4	64,4 ± 6,3
	0	++	++	-
	0,25	-	++	-
	0,5	-	-	-
	1,0	-	+	-

Tab. 9

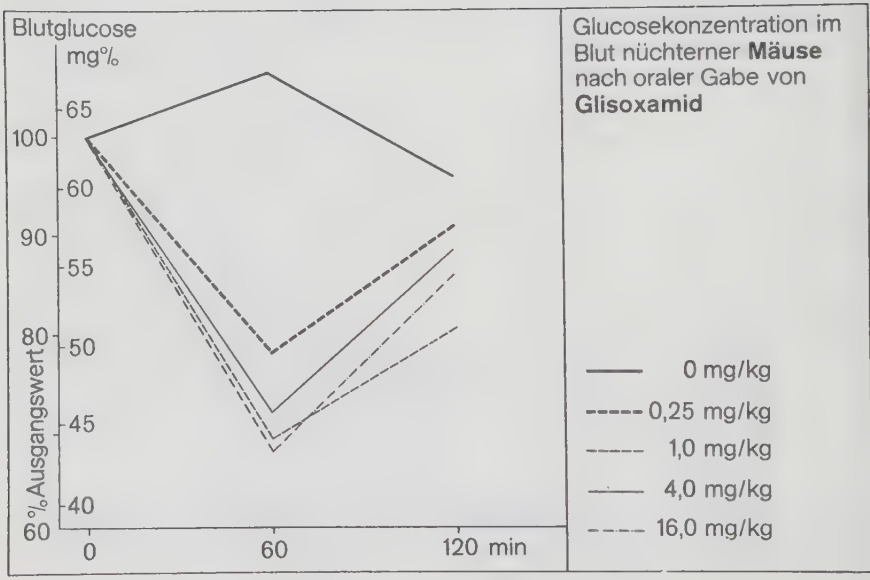

Blutglucose
mg%
65
60
55
50
45
40
100
90
80
60
%Ausgangswert
0
60
120 min
Glucosekonzentration im Blut nüchterner **Mäuse** nach oraler Gabe von **Glisoxamid**
0 mg/kg
0,25 mg/kg
1,0 mg/kg
4,0 mg/kg
16,0 mg/kg

Abb. 11

Glucosekonzentration im Blut (mg%) nüchterner Mäuse nach oraler Gabe von Glisoxamid. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test: - = $p > 0{,}05$; + = $p < 0{,}05$; ++ = $p < 0{,}02$. (n = 15 Tiere/Gruppe).

Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen mg/kg	Vorwert	60 Minuten	120 Minuten
0		63,3 ± 4,5	67,2 ± 3,8	60,6 ± 2,4
0,25			49,5 ± 2,3	57,6 ± 2,9
	0		+	-
1,0			44,0 ± 1,6	51,0 ± 2,8
	0		-	-
	0,25		-	-
4,0			45,7 ± 2,6	55,9 ± 2,8
	0		+	-
	0,25		-	-
	1,0		-	-
16,0			42,2 ± 1,7	54,4 ± 3,7
	0		++	-
	0,25		++	++
	1,0		++	-
	4,0		++	-

Tab. 10

nach 4 Stunden verzichtet (Tab. 10, Abb.11) .

3.1.1.2.2 Insulinfreisetzende Wirkung

Im Anschluß an diese Versuche wurde geprüft, ob die blutzuckersenkende Wirkung der drei Verbindungen mit einer Steigerung der Insulinsekretion einhergeht. Da man erwarten kann, dass bei einer Stimulation der Insulinfreisetzung ein Konzentrationsanstieg des Hormons im peripheren Blut dem Abfall der Blutzuckerkonzentration zeitlich vorausgeht, wurde das Seruminsulin 30 und 60 Minuten nach oraler Gabe der Substanzen bestimmt (Tab. 11,12,13,14 - Abb. 12,13,14) .
30 Minuten nach oraler Applikation war unter dem Einfluß aller drei Substanzen eine deutliche dosisabhängige Steigerung der Insulinkonzentration im Serum festzustellen. Das Seruminsulin der Kontrollen betrug 4,7 µE/ml. Die höchsten Anstiege wurden unter dem Einfluß von 1000 mg/kg Glymidin-Natrium, 4 mg/kg Glydanil-Natrium oder 1 mg/kg Glisoxamid gemessen. Die absolute Höhe der maximal wirksamen Dosen war unterschiedlich. Während nach Gabe von Glydanil-Natrium und Glisoxamid die Insulinkonzentration im Serum auf Werte über 20 µE/ml anstieg, wurden unter dem Einfluß von Glymidin-Natrium zum gleichen Zeitpunkt nur etwa 15 µE/ml erreicht. Da innerhalb der ersten Stunde nur 2 Bestimmungen durchgeführt wurden, darf aus der unterschiedlichen Höhe der nach 30 Minuten gemessenen Insulinkonzentrationen nicht geschlossen werden, dass die beiden neuen Substanzen bei Mäusen zu einem absolut höheren Anstieg des Seruminsulins führen als Glymidin-Natrium. Für eine derartige Aussage müsste

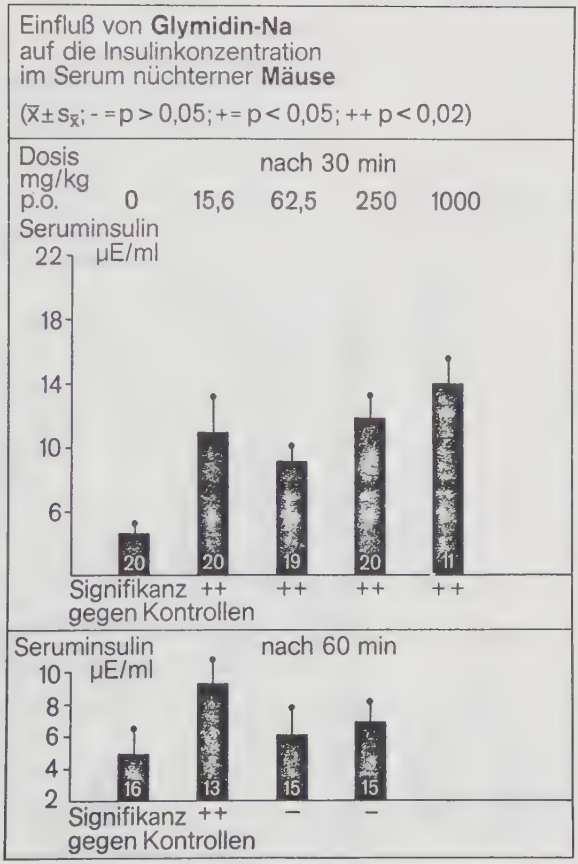

Einfluß von Glymidin-Na
auf die Insulinkonzentration
im Serum nüchterner Mäuse
($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$; - = p > 0,05; + = p < 0,05; ++ p < 0,02)
Dosis mg/kg p.o.
nach 30 min
0
15,6
62,5
250
1000
Seruminsulin µE/ml
22
18
14
10
6
20
20
19
20
11
Signifikanz gegen Kontrollen
++
++
++
++
Seruminsulin µE/ml
nach 60 min
10
8
6
4
2
16
13
15
15
Signifikanz gegen Kontrollen
++
–
–

Abb. 12

Glucosekonzentration im Blut (mg%) und Insulinkonzentration im Serum (µE/ml) nüchterner Mäuse 30 Min. nach oraler Gabe von Glymidin-natrium. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test:
- = $p > 0,05$; + = $p < 0,05$; ++ = $p < 0,02$.
(n = 20 Tiere/Gruppe)

Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen:	Glucose	Insulin
0		82,8 ± 2,4	4,7 ± 0,5
15,6		62,8 ± 3,3	11,0 ± 2,0
	0	++	++
62,5		54,7 ± 2,0	9,2 ± 0,8
	0	++	++
	15,6	+	-
250,0		54,9 ± 1,8	11,9 ± 1,4
	0	++	++
	15,6	+	-
	62,5	-	-
1000,0		53,8 ± 1,8	14,0 ± 1,6
	0	++	++
	15,6	+	+
	62,5	-	++
	250,0	-	-

Tab. 11

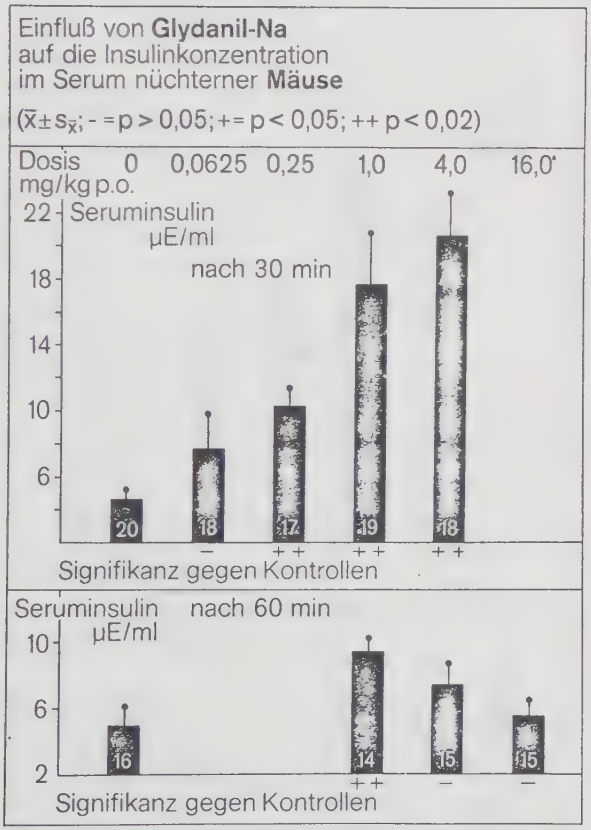

Einfluß von Glydanil-Na
auf die Insulinkonzentration
im Serum nüchterner Mäuse
($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$; - = p > 0,05; + = p < 0,05; ++ p < 0,02)
Dosis mg/kg p.o.
0
0,0625
0,25
1,0
4,0
16,0
Seruminsulin µE/ml
nach 30 min
22
18
14
10
6
20
18
17
19
18
–
++
++
++
Signifikanz gegen Kontrollen
Seruminsulin µE/ml
nach 60 min
10
6
2
16
14
15
15
++
–
–
Signifikanz gegen Kontrollen

Abb. 13

Glucosekonzentration im Blut (mg%) und Insulinkonzentration im Serum (µE/ml) nüchterner Mäuse 30 Min. nach oraler Gabe von Glydanil-natrium. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test:
- = $p > 0,05$; + = $p < 0,05$; ++ = $p < 0,02$.
(n = 20 Tiere/Gruppe)

Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen:	Glucose	Insulin
0		82,8 ± 2,4	4,7 ± 0,5
0,063		58,3 ± 2,0	7,8 ± 2,1
	0	++	++
0,25		55,6 ± 1,9	10,3 ± 2,0
	0	++	++
	0,063	-	-
1,0		43,2 ± 2,0	17,7 ± 3,3
	0	++	++
	0,063	++	++
	0,25	++	+
4,0		46,7 ± 1,9	20,7 ± 2,6
	0	++	++
	0,063	++	++
	0,25	++	++
	1,0	-	-

Tab. 12

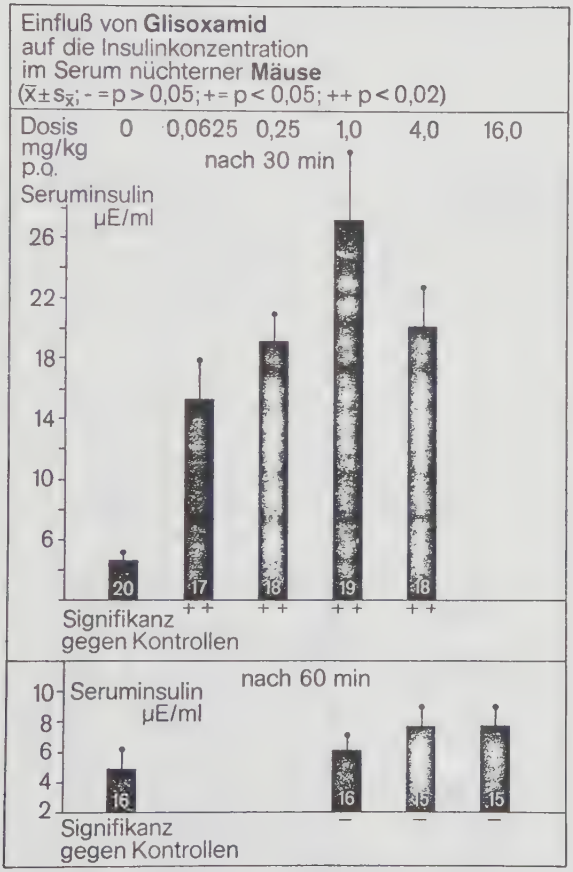

Einfluß von Glisoxamid
auf die Insulinkonzentration
im Serum nüchterner Mäuse
($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$; - = p > 0,05; + = p < 0,05; ++ p < 0,02)
Dosis mg/kg p.o.
0
0,0625
0,25
1,0
4,0
16,0
nach 30 min
Seruminsulin µE/ml
26
22
18
14
10
6
20
17
18
19
18
+ +
+ +
+ +
+ +
Signifikanz gegen Kontrollen
nach 60 min
Seruminsulin µE/ml
10
8
6
4
2
16
16
15
15
–
–
–
Signifikanz gegen Kontrollen

Abb.14

Glucosekonzentration im Blut (mg%) und Insulinkonzentration im Serum (µE/ml) nüchterner Mäuse 30 Min. nach oraler Gabe von Glisoxamid. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test: – = $p > 0,05$; + = $p < 0,05$; ++ = $p < 0,02$. (n = 20 Tiere/Gruppe)

Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen:	Glucose	Insulin
0		82,8 ± 2,4	4,7 ± 0,5
0,063		53,3 ± 2,6	15,3 ± 2,6
	0	++	++
0,25		51,5 ± 1,7	19,2 ± 2,1
	0	++	++
	0,063	–	+
1,0		51,8 ± 2,1	27,2 ± 4,5
	0	++	++
	0,063	–	++
	0,25	–	–
4,0		52,9 ± 2,9	20,2 ± 2,5
	0	++	++
	0,063	–	+
	0,25	–	–
	1,0	–	–

Tab. 13

Glucosekonzentration im Blut (mg%) und Insulinkonzentration im Serum (µE/ml) nüchterner Mäuse 60 Min. nach oraler Gabe von Glymidin-Na, Glydanil-Na und Glisoxamid. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test: - = $p > 0,05$; + = $p < 0,05$; ++ = $p < 0,02$.
(n = 15 Tiere/Gruppe)

		Glymidin-Na				Glydanil-Na		Glisoxamid	
Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen:	Glucose	Insulin	Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen:	Glucose	Insulin	Glucose	Insulin
0		69,6±3,6	5,0±1,0	0		69,6±3,6	5,0±1,0	69,6±3,6	5,0±1,0
16,0		57,9±2,1	9,4±1,4	1,0		60,7±1,4	9,4±0,8	57,1±2,1	6,2±0,9
	0	++	++		0	-	++	++	-
62,5		50,2±2,3	6,1±1,6	4,0		67,5±2,6	7,4±1,3	60,2±1,4	[illegible]±1,3
	0	++	-		0	-	-	-	-
	16,0	+	-		1,0	++	-	-	-
250,0		49,4±1,5	7,0±1,1	16,0		58,6±2,4	5,4±1,1	61,1±2,1	7,8±1,2
	0	++	-		0	+	-	-	-
	16,0	++	-		1,0	-	++	-	-
	62,5	-	-		4,0	++	-	-	-

Tab. 14

durch wiederholte Messungen geklärt werden, ob der Zeitpunkt, zu dem die jeweils höchste Konzentration auftrat, für die drei Verbindungen gleich ist. Daß dies wahrscheinlich nicht der Fall ist, kann man aus dem gleichartigen Verhalten der Blutzucker- und Seruminsulinkonzentrationen nach Gabe von Glisoxamid erkennen. Unter dem Einfluß dieser Substanz, deren blutzuckersenkende Wirkung nach der 60. Minute bereits wieder abklingt, also offenbar am kürzesten anhält, wurden nach 30 Minuten (orale Applikation) die absolut höchsten Insulinwerte gemessen, während nach 60 Minuten im Gegensatz zu den beiden anderen Verbindungen keine signifikanten Unterschiede gegenüber den Kontrollen bestanden.

3.1.1.2.3 Dosiswirkungsrelationen

Die unterschiedliche Dauer und Stärke der Blutzuckersenkung und des Insulinanstiegs im Serum wurden auch bei der Berechnung der relativen Wirksamkeiten deutlich (Tab.15) , wobei allerdings die numerischen Unterschiede bei beiden Parametern verschieden waren. In Bezug auf die Steigerung des Seruminsulins 30 Minuten nach oraler Gabe der Verbindungen war Glydanil-Natrium im Mittel fast 1200 mal wirksamer als Glymidin-Natrium, Glisoxamid hatte zu diesem Zeitpunkt sogar eine 10fach höhere Wirkung als Glydanil-Natrium. Vergleicht man die blutzuckersenkende Wirkung nach 60 Minuten, so hatten die beiden neuen Verbindungen nahezu die gleiche Wirksamkeit. Zur Erzielung desselben Effektes waren gegenüber Glymidin-Natrium etwa 40-50fach geringere Dosen erforderlich. Hierbei muss man jedoch berücksichtigen, dass Glisoxamid

zu diesem Zeitpunkt offenbar seinen maximalen Effekt bereits überschritten hatte, während die Wirkung der anderen beiden Substanzen noch zunahm.

Zusammenfassend kann daher festgestellt werden, dass Glydanil-Natrium und Glisoxamid bei Mäusen in gleicher Weise wie bei Meerschweinchen die Glucosekonzentration erniedrigen und erheblich wirksamer sind als Glymidin-Natrium. Auch bei dieser Tierart tritt der Effekt von Glisoxamid schneller ein als die Wirkung der beiden Sulfonylpyrimidine, hält aber dafür nicht so lange an. Alle drei Verbindungen steigern die Insulinkonzentration im Serum des peripheren Blutes dosisabhängig.

Blutzuckersenkende und insulinfreisetzende Wirkung von Glymidin-natrium, Glydanil-natrium und Glisoxamid bei nüchternen Mäusen nach oraler Gabe. Angegeben sind die Wirkungsunterschiede (Titer) gegenüber dem jeweiligen Testpräparat und die 95%-Vertrauensgrenzen.

(Auswertung nach dem Rechenprogramm 'Vergleich paralleler (Insulin) oder nicht paralleler (Glucose) Dosiswirkungsgeraden').

Vergleichs-präparat	Testpräparat	Seruminsulin (µE/ml) n. 30 min.	Blutglucose (mg%) n.60 min.
Glymidin-Na	Glydanil-Na	1189 (409 - 4708)	43,3 (17,3 - 69,3)
Glymidin-Na	Glisoxamid	-------	46,6 (19,3 - 73,8)
Glydanil-Na	Glisoxamid	11,0 (3,2 - 80,9)	1,1 (0,5 - 1,7)

Tab. 15

3.1.1.3 K A N I N C H E N.

Die Untersuchungen an dieser Tierart wurden nach Gabe je einer deutlich wirksamen Dosis der drei Substanzen durchgeführt. Ihre Höhe war in Vorversuchen ermittelt worden.
In erster Linie sollte die Wirkungsdauer der drei Verbindungen verglichen und ausserdem untersucht werden, ob die Blutzuckersenkung in gleicher Weise wie bei Mäusen mit einer Steigerung des Seruminsulins einhergeht.

.1.1.3.1 Blutzuckersenkende Wirkung (Tab.16, Abb.15)

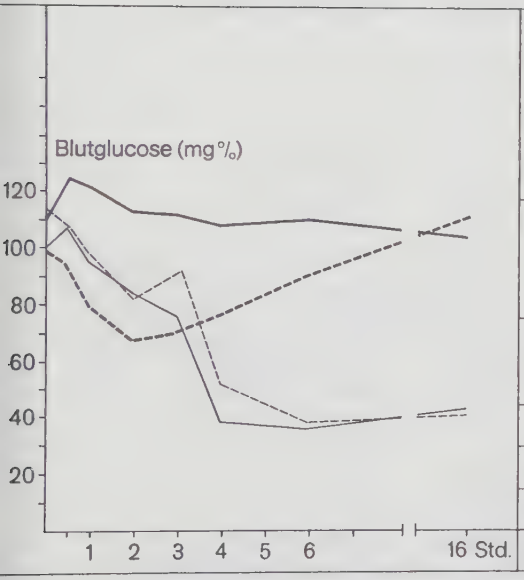
1 mg/kg Glydanil-Natrium und 60 mg/kg Glymidin-Natrium senkten die Blutglucose im gleichen Ausmaß. Die Minima wurden zwischen der 4. und 6. Stunde erreicht und lagen unter 40 mg% (etwa 40% des Ausgangswertes). Dieser Effekt hielt nahezu unverändert über weitere 10 Stunden an. Nach 16 Stunden betrug die Senkung gegenüber den Kontrollen noch immer 60%.
Die Blutzuckersenkung nach Gabe von Glisoxamid war erheblich geringer. Nach 2 Stunden wurde das Minimum erreicht, es betrug 68% des Ausgangswertes. Danach stieg die Blutglucose wieder an, bereits nach 6 Stunden lag sie bei 90 mg% (über 80% des Ausgangswertes), nach 16 Stunden wurden 112 mg% gemessen.
Wie bei Meerschweinchen und Mäusen waren auch bei Kaninchen die beiden neuen Verbindungen erheblich wirksamer als Glymidin-Natrium. Der Unterschied in der relativen Wirksamkeit zwischen Glymidin-Natrium und Glydanil-Natrium lag etwa bei einem Faktor von 60. Andererseits zeigte sich hier ebenfalls die gleiche Differenzierung in der Geschwindigkeit des Wirkungseintritts

und der Wirkungsdauer, die bei den bisher beschriebenen Versuchen zwischen Glisoxamid und den beiden Sulfonylpyrimidinen beobachtet wurde. An Kaninchen sind diese Unterschiede besonders stark ausgeprägt.

3.1.1.3.2 Insulinfreisetzende Wirkung (Tab.17, Abb.16)

Die Ergebnisse der Insulinbestimmung im Serum erlauben keine eindeutige Aussage. Die unter dem Einfluß der drei Pharmaka gemessenen Werte lagen während der gesamten Versuchsdauer über dem Kontrollniveau. Die Differenzen waren weder zu einzelnen Zeiten, noch unter Berücksichtigung des Gesamtverlaufs signifikant. Dies dürfte z.T. auf die in Betracht der geringen Tierzahlen relativ hohen Streuungen zu erklären sein. Ausserdem muss berücksichtigt werden, dass die Tiere bei Versuchsbeginn bereits 24 Stunden gefastet hatten. Untersuchungen von MALAISSE, MALAISSE-LAGAE und WRIGHT (1967) haben gezeigt, dass die sekretorische Leistungsfähigkeit der ß-Zellen bei Nahrungsentzug abnimmt. Hierfür spricht das niedrige absolute Niveau der Insulinkonzentration im Serum der Kaninchen.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, dass auch an Kaninchen die Glucosekonzentration im Blut durch alle drei Verbindungen erniedrigt wird. Der Effekt von Glymidin-Natrium und Glydanil-Natrium hält mindestens 16 Stunden an, die Wirkung von Glisoxamid ist dagegen nach 6 Stunden nicht mehr nachweisbar. Eine deutliche Steigerung des Seruminsulins wie in den Versuchen mit Mäusen konnte bei Kaninchen nicht nachgewiesen werden.



Glucosekonzentration im Blut nüchterner **Kaninchen** nach oraler Gabe von **Glisoxamid** (Glis.) **Glydanil-Na** (Glyd.) und **Glymidin-Na** (Glym.)

——— Kontrollen (Kontr.)
- - - - - Glis. (0,5 mg/kg)
- - - - - Glyd. (1 mg/kg)
——— Glym. (60 mg/kg)

Koller-Lorenz-Tabelle: Signifikanzen zwischen den Kurven + –

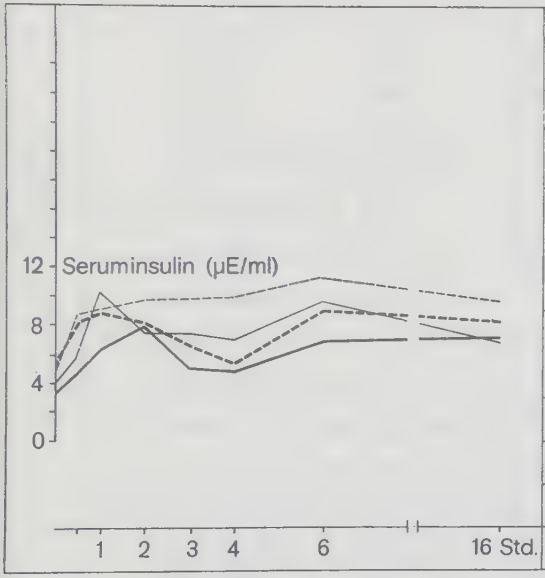
	Kontr.	Glis.	Glyd.
Glis.	+		
Glyd.	+	+	
Glym.	+	+	–

Abb. 15

Glucosekonzentration im Blut (mg%) nüchterner Kaninchen zu verschiedenen Zeiten nach oraler Gabe von Glymidin-Na, Glydanil-Na und Glisoxamid. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test: - = $p > 0{,}05$; + = $p < 0{,}05$; ++ = $p < 0{,}02$. (n = 5 Tiere pro Gruppe)

Substanz (mg/kg)	Signifikanz gegen	Vorwert	30 min	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	6 Std.	16 Std.
Kontrolle		110,1±5,7	125,3±6,8	122,4±3,2	113,8±2,5	112,6±3,8	108,4±5,4	111,1±5,1	104,6±2,2
Glydanil-natrium (1,0)	Kontrollen	114,8±3,6	107,7±1,9	97,7±5,0	83,3±6,1	91,7±6,4	52,4±5,3	38,6±6,5	41,8±7,3
		-	++	++	++	++	++	++	++
Glisoxa-mid (1,0)	Kontrollen	99,0±2,0	94,2±6,1	79,0±7,4	67,7±4,7	70,8±7,3	76,9±3,7	91,1±5,9	111,8±2,8
		-	++	++	++	++	++	-	-
	Glydanil-Na+	+	-	-	-	-	++	++	++
Glymidin-natrium (60,0)	Kontrollen	101,2±2,9	107,8±6,2	95,8±5,3	84,3±4,1	76,5±3,0	39,9±5,3	37,3±2,4	43,2±4,3
		-	-	++	++	++	++	++	++
	Glydanil-Na+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glisoxa-mid	-	-	-	-	-	++	++	++

Tab. 16



Insulinkonzentration im Serum nüchterner **Kaninchen** nach oraler Gabe von **Glisoxamid** (Glis.) **Glydanil-Na** (Glyd.) und **Glymidin-Na** (Glym.)

—— Kontrollen (Kontr.)
----- Glis. (1 mg/kg)
----- Glyd. (1 mg/kg)
—— Glym. (60 mg/kg)

Koller-Lorenz-Tabelle: Signifikanzen zwischen den Kurven + —

	Kontr.	Glis.	Glyd.
Glis.	—		
Glyd.	—	—	
Glym.	—	—	—

Abb. 16

Insulinkonzentration im Serum (µE/ml) nüchterner Kaninchen zu verschiedenen Zeiten nach oraler Gabe von Glymidin-Na, Glydanil-Na und Glisoxamid. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test: - = $p > 0{,}05$; + = $p < 0{,}05$; ++ = $p < 0{,}02$. (n = 5 Tiere pro Gruppe)

Substanz (mg/kg)	Signifikanz gegen	Vorwert	30 Min.	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	6 Std.	16 Std.
Kontrolle		3,4 ± 0,7	4,8 ± 1,1	6,3 ± 1,8	8,0 ± 2,3	5,1 ± 1,3	4,7 ± 1,4	6,9 ± 2,2	7,1 ± 1,3
Glydanil-natrium (1,0)		4,9 ± 0,9	8,9 ± 2,9	9,2 ± 2,1	9,8 ± 3,4	9,9 ± 4,4	10,0 ± 1,8	11,5 ± 2,6	9,7 ± 1,5
	Kontrolle	-	-	-	-	-	-	-	-
Glisoxa-mid (1,0)		5,2 ± 1,1	8,2 ± 1,3	8,9 ± 1,9	8,3 ± 1,8	6,5 ± 0,6	5,4 ± 0,6	9,1 ± 1,8	8,1 ± 1,8
	Kontrolle	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glydanil-Na+	-	-	-	-	-	+	-	-
Glymidin-natrium (60,0)		4,1 ± 0,5	6,0 ± 1,5	10,3 ± 4,6	7,6 ± 1,2	7,5 ± 0,7	7,0 ± 0,9	9,7 ± 1,7	6,8 ± 0,7
	Kontrolle	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glydanil-Na+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glisoxa-mid	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 17

3.1.1.4 H U N D E

An diesen Tieren wurden Experimente nach intravenöser und oraler Gabe der drei Verbindungen durchgeführt.

3.1.1.4.1 Zunächst wurde nach intravenöser Injektion verschiedener Dosen der drei Sulfonamide Eintritt und Dauer der Blutzuckersenkung sowie ihre Dosisabhängigkeit untersucht. Ausserdem wurde geprüft, ob dieser Effekt mit einer Steigerung der Insulinkonzentration im Serum einhergeht.

3.1.1.4.1.1 Blutzuckersenkende Wirkung

3.1.1.4.1.1.1 Glymidin-Natrium (Tab. 18, Abb.17)

Die Substanz führte zu einer dosisabhängigen Erniedrigung der Glucosekonzentration im Blut. Ein maximaler Effekt wurde nach Gabe von 62,5 mg/kg erzielt, eine Erhöhung der Dosis auf 250 mg/kg hatte keinen weiteren Abfall des Blutzuckers zur Folge. Die Wirkung trat bereits nach 15 Minuten ein, minimale Werte wurden nach 45 Minuten gemessen. Der Wiederanstieg der Blutzuckerkonzentration erfolgte sehr langsam, erst 6 Stunden nach Versuchsbeginn wurde nach Gabe der geringsten Dosis (15,6 mg/kg) das Kontrollniveau wieder erreicht. Zum gleichen Zeitpunkt war der Blutzucker unter dem Einfluß von 62,5 mg/kg erst um 10 mg% über den Minimalwert angestiegen.

3.1.1.4.1.1.2 Glydanil-Natrium (Tab.19, Abb.18)

Auch unter dem Einfluß von Glydanil-Natrium nahm die

Glucosekonzentration im Blut dosisabhängig ab. Mit 0,062 mg/kg wurde der Blutzucker auf Werte unter 60 mg% gesenkt. Ein Maximaleffekt wurde durch intravenöse Injektion von 0,25 mg/kg erzielt, die niedrigsten Werte wurden mit 40 mg/kg nach 30 Minuten gemessen. Eine Erhöhung der Dosis auf 1 mg/kg hatte keine Verstärkung der Blutzuckersenkung zur Folge. Die Wirkungsdauer war etwas geringer als nach Gabe von Glymidin-Natrium. Unter dem Einfluß der geringsten Dosis wurden nur bis zur 90 Minute signifikante Unterschiede gegenüber den Kontrollen gemessen. 6 Stunden nach Injektion von 0,25 mg/kg oder 1 mg/kg lagen die Blutzuckerkonzentrationen über 50 mg%, während zum gleichen Zeitpunkt nach Applikation von Glymidin-Natrium noch Glucosekonzentrationen um 45 mg% gemessen wurden.

3.1.1.4.1.1.3 Glisoxamid (Tab. 20, Abb.19)

Auch nach Injektion von Glisoxamid wurde die Glucosekonzentration im Blut dosisabhängig erniedrigt. Nach Gabe von 0,031 mg/kg war eine signifikante Senkung gegenüber den Kontrollen von der 15. bis zur 45. Minute nachweisbar. 0,25 mg/kg erniedrigten die Blutglucose auf Konzentrationen um 35 mg%. Dieser Maximaleffekt wurde nach 45 Minuten erreicht. Eine Erhöhung der Dosis auf 1 mg/kg hatte keinen stärkeren Effekt zur Folge, die Wirkung dieser Dosis hielt jedoch längere Zeit an. Während unter dem Einfluß von 0,25 mg/kg nach 6 Stunden der Blutzucker wieder auf 60 mg% angestiegen war, wurde nach Injektion von 1 mg/kg zu

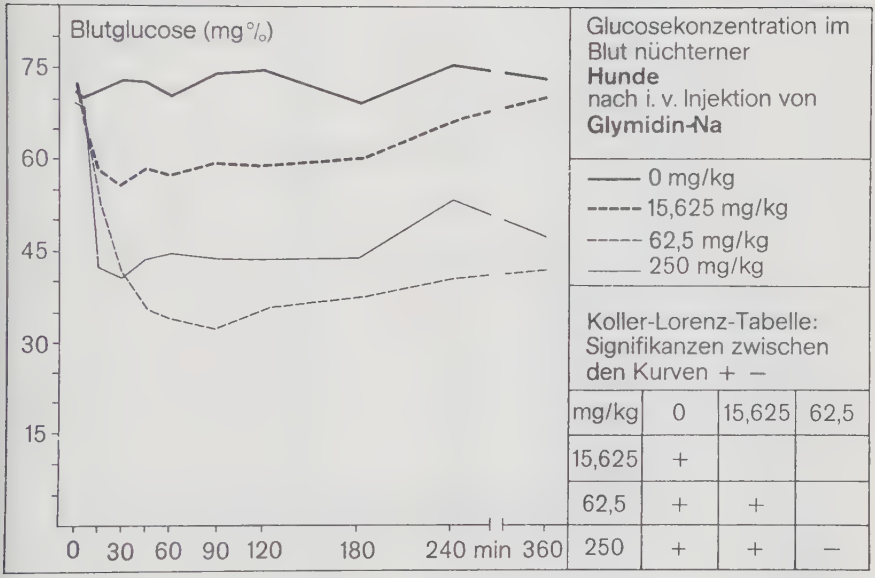

Blutglucose (mg%)
75
60
45
30
15
0
30
60
90
120
180
240 min
360
Glucosekonzentration im Blut nüchterner **Hunde** nach i. v. Injektion von **Glymidin-Na**
0 mg/kg
15,625 mg/kg
62,5 mg/kg
250 mg/kg
Koller-Lorenz-Tabelle: Signifikanzen zwischen den Kurven + –
mg/kg | 0 | 15,625 | 62,5
15,625 | + | | |
62,5 | + | + | |
250 | + | + | –

Abb. 17

Glucosekonzentration im Blut (mg/100 ml) nüchterner Hunde zu verschiedenen Zeiten nach i.v. Injektion von Glymidin-Na. (Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung der Unterschiede erfolgte nach dem U-Test: - = $p > 0,05$; + = $p < 0,05$, $> 0,02$; ++ = $p < 0,02$; n = 9 Tiere/Gruppe).

Dosis (mg/kg)	Vorwert	5 Min.	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	180 Min.	240 Min.	360 Min.
0	71,6±1,2	70,0±1,5	71,5±1,3	73,2±1,6	72,8±2,0	70,4±1,7	74,2±1,9	74,8±1,9	69,4±2,2	75,8±1,4	73,7±1,6
15,6	72,4±2,3	64,3±3,9	58,8±3,4	55,8±1,3	58,2±2,2	57,6±1,7	59,6±1,4	59,2±2,4	60,0±1,5	66,5±1,6	71,1±2,2
Signif. gegen 0	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	-
62,5	66,0±2,2	64,8±3,0	53,4±2,7	41,6±3,7	35,7±2,7	33,9±2,8	32,2±3,0	35,5±3,5	37,4±3,8	40,4±2,5	42,1±3,0
Signif. gegen 0	+	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Signif. gegen 15,6	+	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++
250,0	69,4±4,3	68,6±3,7	42,5±3,5	40,1±4,3	43,8±6,8	44,7±6,8	43,8±5,0	43,4±4,7	43,7±4,7	53,3±5,6	47,2±4,4
Signif. gegen 0	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Signif. gegen 15,6	-	-	++	++	+	+	+	+	-	-	++
Signif. gegen 62,5	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 18

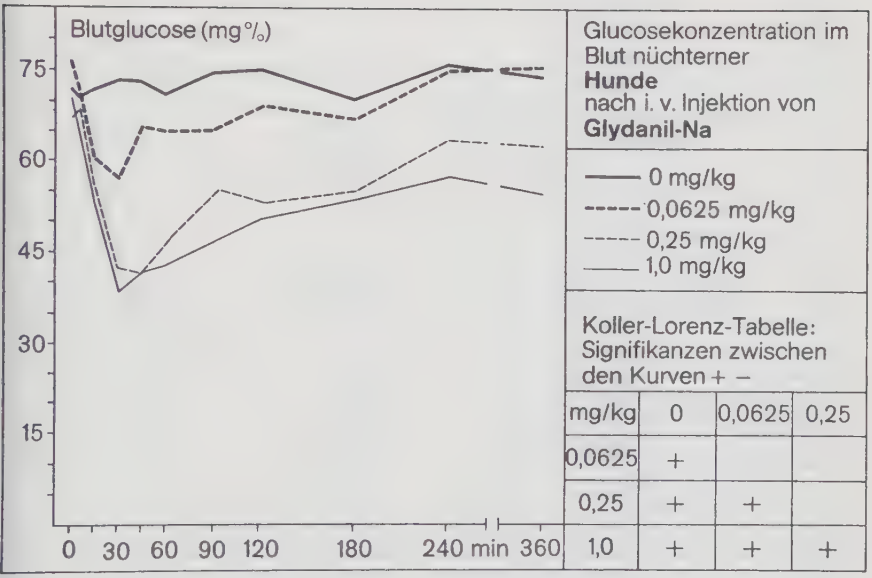

Blutglucose (mg%)
75
60
45
30
15
0 30 60 90 120 180 240 min 360
Glucosekonzentration im Blut nüchterner
Hunde
nach i. v. Injektion von
Glydanil-Na
0 mg/kg
0,0625 mg/kg
0,25 mg/kg
1,0 mg/kg
Koller-Lorenz-Tabelle: Signifikanzen zwischen den Kurven + –
mg/kg 0 0,0625 0,25
0,0625 +
0,25 + +
1,0 + + +

Abb. 18

Glucosekonzentration im Blut (mg/100 ml) nüchterner Hunde zu verschiedenen Zeiten nach i.v. Injektion von Glydanil-Na. (Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung der Unterschiede erfolgte nach dem U-Test: - = p > 0,05; + = p < 0,05, > 0,02; ++ = p < 0,02; n = 9 Tiere/Gruppe).

Dosis (mg/kg)	Vorwert	5 Min.	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	180 Min.	240 Min.	360 Min.
0	71,6±1,2	70,0±1,5	71,5±1,3	73,2±1,6	72,8±2,0	70,4±1,7	74,2±1,9	74,8±1,9	69,4±2,2	75,8±1,4	73,7±1,6
0,0625	76,0±1,1	72,6±1,4	59,5±1,7	56,8±1,6	65,5±1,3	64,5±1,5	64,9±2,2	68,7±3,6	66,7±3,9	75,1±1,6	75,3±2,0
Signif. gegen 0	++	-	++	++	++	++	++	-	-	-	-
0,25	66,6±2,5	68,3±2,8	55,4±1,8	42,6±1,2	41,6±2,5	46,6±2,1	54,4±4,6	53,1±6,0	55,1±3,5	63,4±3,4	62,5±5,1
Signif. gegen 0	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Signif. gegen 0,0625	++	-	-	++	++	++	-	-	-	++	++
1,0	70,0±1,6	64,1±5,1	53,0±5,0	38,3±3,5	41,2±2,3	42,8±1,3	46,3±1,2	50,2±1,3	53,5±2,4	57,3±3,4	54,4±4,3
Signif. gegen 0	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Signif. gegen 0,0625	++	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++
Signif. gegen 0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 19

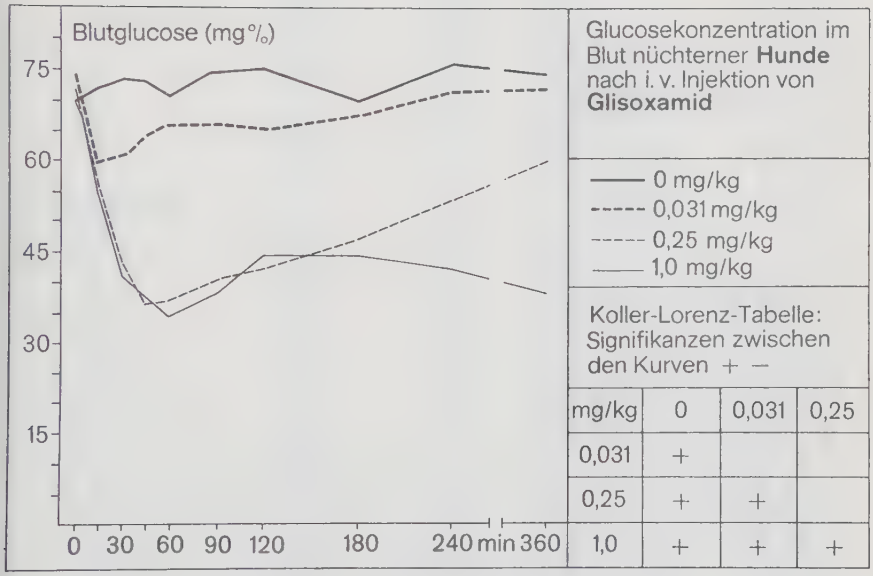
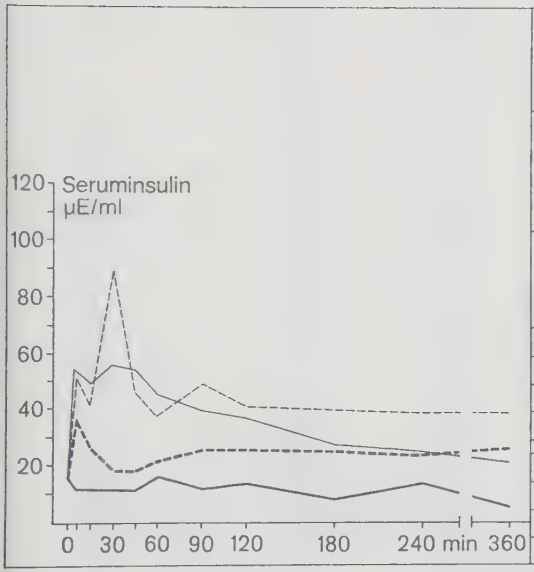

Blutglucose (mg%)
75
60
45
30
15
0
30
60
90
120
180
240 min 360
Glucosekonzentration im Blut nüchterner **Hunde** nach i. v. Injektion von **Glisoxamid**
0 mg/kg
0,031 mg/kg
0,25 mg/kg
1,0 mg/kg
Koller-Lorenz-Tabelle: Signifikanzen zwischen den Kurven + –
mg/kg | 0 | 0,031 | 0,25
0,031 | +
0,25 | + | +
1,0 | + | + | +

Abb. 19

Glucosekonzentration im Blut (mg/100 ml) nüchterner Hunde zu verschiedenen Zeiten nach i.v. Injektion von Glisoxamid. (Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$) Die statistische Beurteilung der Unterschiede erfolgte nach dem U-Test: - = $p > 0,05$; + = $p < 0,05$, $> 0,02$; ++ = $p < 0,02$; n = 9 Tiere/Gruppe).

Dosis (mg/kg)	Vorwert	5 Min.	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	180 Min.	240 Min.	360 Min.
0	71,6±1,2	70,0±1,5	71,5±1,3	73,2±1,6	72,8±2,0	70,4±1,7	74,2±1,9	74,8±1,9	69,4±2,2	75,8±1,4	73,7±1,6
0,031	74,1±1,6	69,4±1,5	58,1±2,9	60,3±1,7	64,0±1,2	65,9±1,5	65,7±2,5	65,3±1,7	67,2±2,2	71,0±1,8	71,6±2,1
Signif. gegen 0	-	-	++	++	++	-	+	++	-	-	-
0,25	69,4±2,4	69,8±2,0	55,2±2,3	43,3±1,2	35,8±2,4	36,7±3,3	40,0±2,1	42,1±3,8	46,5±2,8	53,1±2,5	59,8±2,4
Signif. gegen 0	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Signif. gegen 0,031	-	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++
1,0	69,4±1,3	66,7±1,4	53,8±2,9	40,4±3,9	37,0±3,2	34,3±2,9	38,0±3,1	44,2±3,8	43,9±2,7	42,0±2,2	37,8±3,0
Signif. gegen 0	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Signif. gegen 0,031	-	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++
Signif. gegen 0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++

Tab. 20



Insulinkonzentration im Serum nüchterner **Hunde** nach i. v. Injektion von **Glymidin-Na**

—— 0 mg/kg
----- 15,625 mg/kg
----- 62,5 mg/kg
—— - 250 mg/kg

Koller-Lorenz-Tabelle: Signifikanzen zwischen den Kurven + –
A=0-1 Std. B=1-6 Std.

mg/kg	0	15,625	62,5	A
15,625	+			
62,5	+	+		
250	+	+	+	

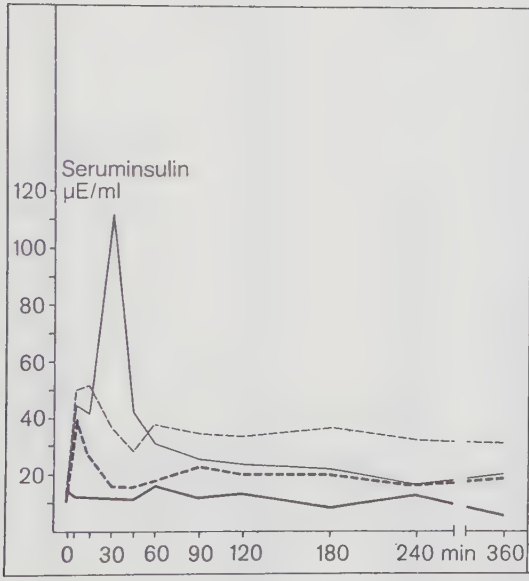
mg/kg	0	15,625	62,5	B
15.625	+			
62,5	+	+		
250	+	+	+	

Abb. 20

Insulinkonzentration im Serum (µE/ml) nüchterner Hunde zu verschiedenen Zeiten nach i.v. Injektion von Glymidin-Na. (Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$)und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung der Unterschiede erfolgte nach dem U-Test: - = p > 0,05; + = p < 0,05, > 0,02; ++ = p < 0,02; n = 9 Tiere/Gruppe).

Dosis (mg/kg)	Vorwert	5 Min.	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	180 Min.	240 Min.	360 Min
0	15,0±3,6	12,0±0,9	11,5±0.9	11,7±1,2	11,6±0,9	16,3±2,2	11,4±1,1	13,3±1,4	8,1±1,1	12,9±1,7	5,1±0,5
15,6	15,3±1,4	35,1±3,5	26,7±6,9	18,6±2,2	18,2±2,1	20,8±1,9	25,6±3,0	25,3±3,7	24,4±4,3	23,6±3,7	25,6±4,5
Signif. gegen 0	-	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++
62.5	20,3±2,7	50,9±10,2	42,0±6,1	89,2±33,0	46,0±3,1	38,1±5,2	48,3±5,6	40,7±4,2	39,7±4,5	38,2±5,3	38,3±5,0
Signif. gegen 0	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Signif. gegen 15,6	-	-	-	++	++	++	++	++	-	-	-
250,0	17,7±3,1	54,1±5,7	48,8±6,4	55,8±12,1	53,8±11,2	44,9±7,3	39,7±5,2	36,9±4,9	27,1±4,1	24,2±2,9	20,9±2,6
Signif. gegen 0	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Signif. gegen 15,6	-	+	+	++	++	+	-	-	-	-	-
Signif. gegen 62,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++

Tab. 21



Insulinkonzentration im Serum nüchterner **Hunde** nach i. v. Injektion von **Glydanil-Na**

—— 0 mg/kg
----- 0,0625 mg/kg
----- 0,25 mg/kg
—— 1,0 mg/kg

Koller-Lorenz-Tabelle: Signifikanzen zwischen den Kurven + —
A=0-1 Std. B=1-6 Std.

A

mg/kg	0	0,0625	0,25
0,0625	+		
0,25	+	+	
1,0	+	+	+

B

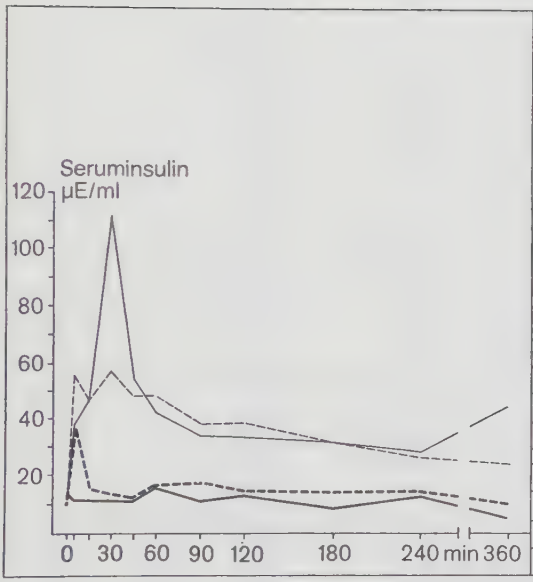
mg/kg	0	0,0625	0,25
0,0625	+		
0,25	+	+	
1,0	+	—	+

Abb. 21

Insulinkonzentration im Serum (µE/ml) nüchterner Hunde zu verschiedenen Zeiten nach i.v.Injektion von Glydanil-Na. (Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung der Unterschiede erfolgte nach dem U-Test: - = $p > 0,05$; + = $p < 0,05$, $> 0,02$; ++ = $p < 0,02$; n = 9 Tiere/Gruppe).

Dosis (mg/kg)	Vorwert	5 Min.	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	180 Min.	240 Min.	360 Min.
0	15,0±3,6	12,0±0,9	11,5±0,9	11,7±1,2	11,6±0,9	16,3±2,2	11,4±1,1	13,3±1,4	8,1±1,1	12,9±1,7	5,1±0,5
0,0625	13,7±2,7	39,0±9,5	25,6±4,0	16,1±1,8	16,2±2,6	18,1±1,7	23,5±2,9	20,4±2,8	21,1±2,9	16,7±2,1	19,1±3,9
Signif. gegen 0	-	++	++	-	-	-	++	-	++	-	++
0,25	18,2±2,2	50,1±6,2	50,7±7,6	36,2±7,6	28,0±3,1	37,9±5,3	33,9±3,2	33,3±4,1	36,5±4,9	32,5±5,1	30,4±4,8
Signif. gegen 0	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Signif. gegen 0,0625	-	-	++	++	++	++	-	++	+	+	-
1,0	13,8±1,6	44,6±6,5	41,1±6,2	112,0±30,6	41,9±3,6	31,2±2,8	24,9±4,3	23,8±2,9	21,7±3,6	16,7±2,3	19,2±4,6
Signif. gegen 0	-	++	++	++	++	++	++	++	++	-	++
Signif. gegen 0,0625	-	-	-	++	++	++	-	-	-	-	-
Signif. gegen 0,25	-	-	-	++	++	-	-	-	-	+	-

Tab. 22



Insulinkonzentration im Serum nüchterner **Hunde** nach i. v. Injektion von **Glisoxamid**

—— 0 mg/kg
----- 0,031 mg/kg
----- 0,25 mg/kg
—— 1,0 mg/kg

Koller-Lorenz-Tabelle:
Signifikanzen zwischen den Kurven + –
A=0-1 Std. B=1-6 Std.

mg/kg	0	0,031	0,25	A
0,031	+			
0,25	+	+		
1,0	+	+	–	

mg/kg	0	0,031	0,25	B
0,031	+			
0,25	+	+		
1,0	+	+	–	

Abb. 22

Insulinkonzentration im Serum (µE/ml) nüchterner Hunde zu verschiedenen Zeiten nach i.v.Injektion von Glisoxamid. (Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung der Unterschiede erfolgte nach dem U-Test: - = $p > 0{,}05$; + = $p < 0{,}05$, $> 0{,}02$; ++ = $p < 0{,}02$; n = 9 Tiere/Gruppe).

Dosis (mg/kg)	Vorwert	5 Min.	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	180 Min.	240 Min.	360 Min.
0	15,0±3,6	12,0±0,9	11,5±0,9	11,7± 1,2	11,6±0,9	16,3±2,2	11,4±1,1	13,3±1,4	8,1±1,1	12,9±1,7	5,1±0,5
0,031	12,3±1,5	37,9±5,3	15,8±1,7	13,9± 1,8	12,2±1,4	16,4±1,7	17,7±2,0	14,6±1,7	14,0±1,5	14,3±1,3	10,4±2,1
Signif. gegen 0	-	++	-	-	-	-	-	-	++	-	-
0,25	13,2±1,7	55,0±9,7	48,4±4,3	57,0± 7,0	48,7±7,2	47,9±7,2	38,3±4,6	38,6±5,1	31,9±6,0	26,4±3,1	24,2±2,7
Signif. gegen 0	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Signif. gegen 0,031	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++
1,0	14,8±1,2	39,6±4,8	46,5±5,2	111,9±31,9	54,6±5,3	42,4±4,3	33,9±3,1	33,8±3,6	31,9±3,9	28,6±3,5	44,4±11,5
Signif. gegen 0	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Signif. gegen 0,031	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Signif. gegen 0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 23

diesem Zeitpunkt noch Werte unter 40 mg% gemessen.

3.1.1.4.1.2 Insulinfreisetzende Wirkung (Tab. 21,22,23 ; Abb.20,21,22)

Alle drei Substanzen hatten eine dosisabhängige Steigerung des Seruminsulins zur Folge. Dieser Effekt war bereits 5 Minuten nach der Injektion nachweisbar und ging damit der blutzuckersenkenden Wirkung zeitlich voraus. Die jeweils geringste Dosis (15,6 mg/kg Glymidin-Natrium, 0,062 mg/kg Glydanil-Natrium, 0,031 mg/kg Glisoxamid) steigerten das Seruminsulin nur geringgradig und vorübergehend. Bereits nach 15 Minuten fiel die Konzentration des Hormons wieder ab. Zwischen der 45. und 60. Minute kam es zu einem erneuten, allerdings geringeren Anstieg, der nach Gabe von Glymidin-Natrium und Glydanil-Natrium über längere Zeit deutlich nachgewiesen werden konnte.

Nach Injektion höherer Dosen der drei Verbindungen waren im Prinzip die gleichen Phänomene erkennbar. Nach einem primär höheren Anstieg des Seruminsulins auf Werte um 100 µE/ml innerhalb der ersten halben Stunde kam es zu einem Abfall, der jedoch das Kontrollniveau nicht erreichte. Eine plateauartige geringere Erhöhung der Insulinkonzentration im Serum war in allen Fällen bis zum Versuchsende nachweisbar. Nach Gabe von Glymidin-Natrium wurde der stärkste Effekt durch 62,5 mg/kg erzielt, 250 mg/kg hatten keine weitere Erhöhung des Seruminsulins zur Folge. Unter Berücksichtigung des gesamten Kurvenverlaufes waren die

Werte sogar geringer als nach Injektion von 62,5 mg/kg. Abgesehen von dem initialen Insulinanstieg wurde auch nach Injektion der jeweils höchsten Dosis (1 mg/kg) der beiden neuen Substanzen keine höheren Anstiege des Seruminsulins beobachtet als nach Gabe der mittleren Dosen (0,25 mg/kg).

3.1.1.4.1.3 Dosiswirkungsrelationen

Die Berechnung der Dosiswirkungsrelationen, die nach den beiden in der Methodik angegebenen Rechenprogrammen durchgeführt wurden, haben zu verschiedenen Zeiten nach intravenöser Injektion zu unterschiedlichen Ergebnissen geführt. Die Wirkung von Glydanil-Natrium auf die Erhöhung des Seruminsulins war danach zwischen 80 und 250mal stärker als der Effekt von Glymidin-Natrium. Zur Erzielung des gleichen Effektes waren zwischen 75 und 350 mal geringere Dosen von Glisoxamid notwendig. Glisoxamid ist demnach 0,4 bis 1,4 mal so wirksam wie Glydanil-Natrium. Sieht man von der initialen starken Steigerung des Seruminsulins ab, bei der sich beide Substanzen nicht unterschieden, so war Glisoxamid zunächst etwas wirksamer als Glydanil-Natrium. Nach 6 Stunden kehrte sich dieses Verhältnis dann um (Tab.24

Ähnliche Unterschiede lassen Vergleiche der blutzuckersenkenden Wirkung erkennen. Glydanil-Natrium und Glisoxamid waren hier zwischen 100 und 200 mal wirksamer als Glymidin-Natrium. Nach 60 und 90 Minuten hatte Glisoxamid einen

stärkeren Effekt als Glydanil-Natrium, danach verschoben sich die Relationen. Nach 6 Stunden war die relative Wirksamkeit beider Substanzen etwa gleich (Tab. 25).

Diese Befunde weisen darauf hin, dass auch an Hunden Glydanil-Natrium ähnlich wie Glymidin-Natrium eine leicht protrahierte Wirkung besitzt, während der Effekt von Glisoxamid etwas kürzer anhält.
Im Prinzip sind damit die gleichen Unterschiede zwischen Glisoxamid und den beiden Sulfonylpyrimidinen erkennbar, die auch bei den anderen Tierarten beobachtet wurden, allerdings sind sie hier geringer ausgeprägt.

Blutzuckersenkende Wirkung von Glymidin-Na, Glydanil-Na und Glisoxamid bei nüchternen, normalen Hunden nach i.v. Injektion (angegeben sind die Wirkungsunterschiede (= Titer) gegenüber dem jeweiligen Testpräparat mit den 95%-Vertrauensgrenzen)

Vergleichs-präparat	Test-präparat	Auswertung nach dem Programm "Vergleich nicht-paralleler Dosiswirkungsgeraden"	Auswertung nach dem Programm "Vergleich paralleler Dosiswirkungsgeraden"
		30 Minuten nach i.v. Gabe	
Glymidin-Na	Glydanil-Na	224,5 (285,3 - 163,7)	222,2 (454,5 - 106,
Glymidin-Na	Glisoxamid	214,1 (275,3 - 153,1)	208,3 (454,5 - 86,
Glydanil-Na	Glisoxamid	(0,95 (1,11 - 0,80))	0,9 (1,8 - 0,
		60 Minuten nach i.v. Gabe	
Glymidin-Na	Glydanil-Na	136,6 (172,7 - 100,4)	---
Glymidin-Na	Glisoxamid	223,2 (274,0 - 172,4)	
Glydanil-Na	Glisoxamid	1,6 (2,0 - 1,2)	
		90 Minuten nach i.v. Gabe	
Glymidin-Na	Glydanil-Na	96,7 (140,8 - 52,6)	Auswertung nach
Glymidin-Na	Glisoxamid	179,7 (221,6 - 137,9)	diesem Programm
Glydanil-Na	Glisoxamid	1,9 (2,7 - 1,2)	nicht möglich
		120 Minuten nach i.v. Gabe	
Glymidin-Na	Glydanil-Na	121,8 (184,1 - 59,4)	---
Glymidin-Na	Glisoxamid	190,1 (251,2 - 129,0)	
Glydanil-Na	Glisoxamid	1,6 (2,4 - 0,8)	
		360 Minuten nach i.v. Gabe	
Glymidin-Na	Glydanil-Na	101,7 (157,7 - 45,7)	Auswertung nach
Glymidin-Na	Glisoxamid	105,6 (147,1 - 64,0)	diesem Programm
Glydanil-Na	Glisoxamid	1,2 (1,9 - 0,4)	nicht möglich

Tab. 25

linfreisetzende Wirkung von Glymidin-Na, Glydanil-Na und oxamid bei nüchternen, normalen Hunden nach i.v. Injektion egeben sind die Wirkungsunterschiede (= Titer) gegenüber jeweiligen Testpräparat mit den 95%-Vertrauensgrenzen)

leichs-arat	Test-präparat	Auswertung nach dem Programm "Vergleich nicht-paralleler Dosiswirkungsgeraden"	Auswertung nach dem Programm "Vergleich paralleler Dosiswirkungsgeraden"
		30 Minuten nach i.v. Gabe	
ldin-Na	Glydanil-Na	82,8 (130,8 - 34,9)	131,6 (238,1 - 74,6
ldin-Na	Glisoxamid	88,5 (144,3 - 32,7)	208,3 (370,4 - 119,0
anil-Na	Glisoxamid	1,05(1,55 - 0,55)	1;6 (2,7 - 0,9
		60 Minuten nach i.v. Gabe	
ldin-Na	Glydanil-Na	240,6 (347,4 - 133,7)	---
ldin-Na	Glisoxamid	348,9 (505,5 - 192,3)	
anil-Na	Glisoxamid	1,4 (2,1 - 0,8)	
		90 Minuten nach i.v. Gabe	
ldin-Na	Glydanil-Na	145,4 (206,8 - 84,1)	125,0 (243,9 - 44,1
ldin-Na	Glisoxamid	174,1 (238,1 - 110,0)	166,7 (333,3 - 63,3
anil-Na	Glisoxamid	1,2 (1,6 - 0,7)	1,3 (2,9 - 0,6
		120 Minuten nach i.v. Gabe	
ldin-Na	Glydanil-Na	170,3 (260,2 - 80,5)	---
ldin-Na	Glisoxamid	218,2 (302,8 - 133,7)	
anil-Na	Glisoxamid	1,2 (1,7 - 0,7)	
		360 Minuten nach i.v. Gabe	
ldin-Na	Glydanil-Na	170,3 (260,2 - 80,5)	Auswertung nach diesem Programm nicht möglich
ldin-Na	Glisoxamid	74,1 (149,3 - 49,3)	
anil-Na	Glisoxamid	0,4 (1,1 - 0,3)	

24

3.1.1.4.2 Im Anschluß hieran wurde in einer zweiten Versuchsreihe geprüft, ob sich diese Differenzen auch nach oraler Gabe nachweisen lassen.

Diese Versuche wurden nach Gabe jeweils nur einer Dosis der drei Substanzen durchgeführt. Es wurden Dosen gewählt die nach intravenöser Injektion eine maximale Erniedrigun der Blutzuckerkonzentration hervorriefen.

3.1.1.4.2.1 Blutzuckersenkende Wirkung

Die Ergebnisse, die auf Tab.26 und Abb.23 dargestellt sin zeigen, daß Glymidin-Natrium und Glisoxamid auch bei oral Applikation der gewählten Dosen zu einer Erniedrigung der Blutglucose führten, die in der gleichen Grössenordnung lag wie nach intravenöser Injektion.

Dagegen war die Wirkung von 1 mg/kg Glydanil-Natrium unte diesen Bedingungen nur etwa halb so gross wie nach intravenöser Injektion (vergl. Tab. 19, Abb. 18). Im übrigen zeigten sich auch bei dieser Versuchsanordnung die gleich prinzipiellen Unterschiede zwischen Glymidin-Natrium und Glydanil-Natrium einerseits und Glisoxamid andererseits. Allerdings traten sie wegen der etwas geringeren relative Wirksamkeit von Glydanil-Natrium hier weniger deutlich hervor.

Die minimale Blutzuckerkonzentration wurde unter dem Einfluß von Glisoxamid schon nach einer Stunde erreicht, na Gabe von Glymidin-Natrium jedoch erst nach 2 Stunden. Au

der Wiederanstieg der Glucosekonzentration erfolgte mit unterschiedlicher Geschwindigkeit. Während 6 Stunden nach Versuchsbeginn bei den mit Glisoxamid behandelten Tieren schon fast wieder eine Blutzuckerkonzentration von 60 mg% gemessen wurde und nach 16 Stunden das Kontrollniveau erreicht war, betrug die Blutglucose unter dem Einfluß von Glymidin-Natrium zu dem gleichen Zeitpunkt 53 bezw. 60 mg%.

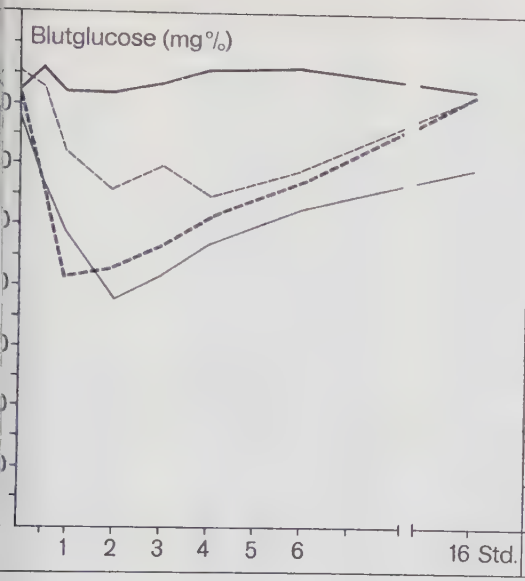
Trotz der geringen relativen Wirksamkeit von Glydanil-Natrium hielt der Maximaleffekt der Verbindung im Gegensatz zur Wirkung von Glisoxamid über mehrere Stunden an. Nach der 4. Stunde bestand kein Unterschied mehr zwischen beiden Gruppen. Der Wirkungscharakter von Glydanil-Natrium ähnelt damit demjenigen von Glymidin-Natrium.

1.1.4.2.2 Insulinfreisetzende Wirkung (Tab.27, Abb.23a)

Man erkennt, dass alle drei Substanzen zu einer Insulinausschüttung führen. Allerdings war das Ausmaß unterschiedlich. Die höchsten Werte wurden eine Stunde nach oraler Gabe von Glisoxamid gemessen. Nach Erreichen dieses initialen Gipfels fiel das Seruminsulin im Laufe der 2. Stunde wieder ab, blieb aber geringfügig, auch nach 6 und 16 Stunden noch signifikant, über dem Niveau der Kontrollen. Auch hier war also wie nach intravenöser Injektion ein biphasisches Verhalten zu beobachten.

Einen im Prinzip gleichartigen Effekt konnte man nach Gabe von Glymidin-Natrium beobachten. Zwar war im Gesamtverlauf der Anstieg geringer als nach Gabe von Glisoxamid (Koller-Lorenz-Auswertung), vergleichende Untersuchungen zu den verschiedenen Einzelzeiten deckten jedoch zwischen beiden Behandlungen keine statistisch signifikanten Unterschiede auf. Auch hier folgte auf einen primären Anstieg ein sekundäres, gering über dem Kontrollniveau liegendes Plateau.
Das gleiche gilt auch für die nach Gabe von Glydanil-Natrium erhobenen Befunde. Die geringere Blutzuckersenkung ging mit einem niedrigeren Anstieg des Seruminsulins einher. Die Konzentration des Hormons stieg lediglich kurzfristig in Form eines niedrigen Gipfels über den Kontrollwert an, im weiteren Verlauf sank sie wieder ab und konnte im peripheren Venenblut nicht mehr signifikant von der unbehandelter Tiere unterschieden werden.

Zusammenfassend zeigen diese Versuche, dass nach oraler Gabe von Glymidin-Natrium und Glisoxamid eine ebenso starke Erniedrigung der Blutglucose und Erhöhung des Seruminsulins erzielt werden kann wie nach intravenöser Injektion gleicher Dosen.
Eine bei i.v. Injektion maximal wirksame Dosis von Glydanil-Natrium hatte dagegen bei oraler Applikation eine etwas geringere Wirkung. Dies weist auf unterschiedliche Resorption der drei Substanzen hin.



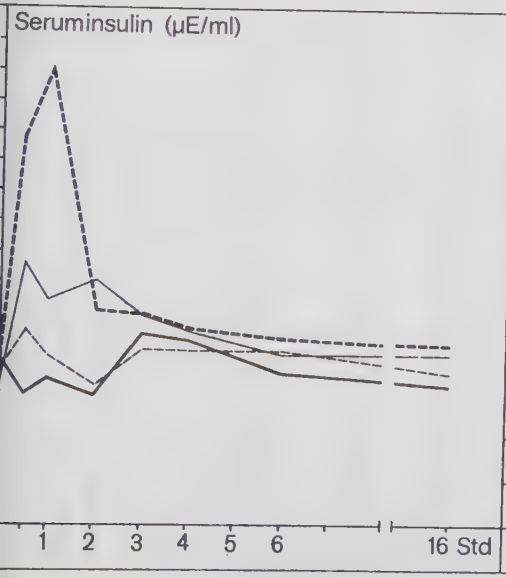
Glucosekonzentration im Blut nüchterner **Hunde** nach oraler Gabe von **Glisoxamid** (Glis.) **Glydanil-Na** (Glyd.) und **Glymidin-Na** (Glym.)

—— Kontrollen (Kontr.)
- - - - Glis. (0,5 mg/kg)
- - - - Glyd. (1 mg/kg)
—— Glym. (60 mg/kg)

Koller-Lorenz-Tabelle: Signifikanzen zwischen den Kurven + –

	Kontr.	Glis.	Glyd.
Glis.	+		
Glyd.	+	+	
Glym.	+	–	+

Abb. 23



Insulinkonzentration im Serum nüchterner **Hunde** nach oraler Gabe von **Glisoxamid** (Glis.) **Glydanil-Na** (Glyd.) und **Glymidin-Na** (Glym.)

—— Kontrollen (Kontr.)
- - - - Glis. (0,5 mg/kg)
- - - - Glyd. (1 mg/kg)
—— Glym. (60 mg/kg)

Koller-Lorenz-Tabelle: Signifikanzen zwischen den Kurven + –

	Kontr.	Glis.	Glyd.
Glis.	+		
Glyd.	–	+	
Glym.	–	+	–

Abb. 23a

Glucosekonzentration im Blut (mg%) nüchterner Hunde zu verschiedenen Zeiten nach oraler Gabe von Glymidin-Na (60 mg/kg), Glydanil-Na (1 mg/kg) und Glisoxamid (0,5 mg/kg)
($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$; statistische Sicherung des Glucoseabfalls gegenüber den Kontrollen: U-Test;
- = $p > 0,05$; + = $p < 0,05$; ++ = $p < 0,02$; n = 5 Tiere/Gruppe).

Substanz	Vorwert	30 Min.	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	6 Std.	16 Std.
Kontrollen	71,8 ± 3,8	75,3 ± 3,6	71,7 ± 3,6	71,4 ± 5,7	73,1 ± 4,1	75,3 ± 4,3	75,9 ± 4,5	72,6 ± 4,9
Glymidin-Na	68,0 ± 2,4	56,4 ± 6,5	48,4 ± 4,3	37,5 ± 2,6	41,3 ± 2,3	46,5 ± 2,7	52,8 ± 2,9	59,6 ± 3,1
Signifikanz gegen Kontr.	-	++	++	++	++	++	++	+
Glydanil-Na	75,0 ± 2,5	72,2 ± 4,3	61,5 ± 7,6	55,5 ± 5,4	59,5 ± 5,5	54,5 ± 4,2	59,1 ± 4,9	71,7 ± 3,8
Signifikanz gegen Kontr.	-	-	-	+	+	++	+	-
Glisoxamid	71,2 ± 1,7	55,9 ± 6,6	41,0 ± 2,7	42,4 ± 1,1	46,4 ± 1,5	50,7 ± 2,2	57,4 ± 3,6	71,7 ± 1,8
Signifikanz gegen Kontr.	-	+	++	++	++	++	+	-

Tab. 26

Insulinkonzentration im Serum (µE/ml) nüchterner Hunde zu verschiedenen Zeiten nach oraler Gabe von Glymidin-Na (60 mg/kg), Glydanil-Na (1 mg/kg) und Glisoxamid (0,5 mg/kg). ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$; statistische Sicherung des Insulinanstieges gegenüber den Kontrollen: U-Test, - = $p > 0,05$; + = $p < 0,05$; ++ = $p < 0,02$; n = 5 Tiere/Gruppe).

Substanz	Vorwert	30 Min.	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	6 Std.	16 Std.
Kontrollen	26,9 ± 2,6	21,2 ± 1,7	23,7 ± 2,3	21,1 ± 3,6	31,4 ± 4,9	30,3 ± 4,3	25,0 ± 1,2	22,7 ± 1,8
Glymidin-Na	23,3 ± 2,3	42,7 ±20,6	36,8 ±11,4	39,9 ± 8,5	34,5 ± 4,9	32,1 ± 4,3	27,8 ± 2,3	28,2 ± 1,6
Signifikanz gegen Kontr.			+	+	-	-	-	+
Glydanil-Na	25,4 ± 3,2	31,8 ± 6,1	27,3 ± 2,3	22,5 ± 1,3	28,7 ± 1,9	28,8 ± 2,7	28,5 ± 3,5	25,0 ± 1,2
Signifikanz gegen Kontr.	-	+	-	-	-	-	-	-
Glisoxamid	28,4 ± 2,7	63,7 ± 7,2	73,8 ±11,6	34,7 ± 4,0	34,6 ± 2,2	32,2 ± 2,6	30,3 ± 1,5	29,7 ± 1,2
Signifikanz gegen Kontr.	-	++	++	+	-	-	+	++

Tab. 27

3.1.2 Einfluß auf die Insulinkonzentration im Serum des Pankreasvenenblutes von Hunden und des Pfortaderblutes von Ratten.

Die bisher beschriebenen Versuche haben gezeigt, dass alle drei Verbindungen bei unterschiedlicher relativer Wirksamkeit die Glucosekonzentration im Blut verschiedener Tierarten erniedrigen. Bei den meisten Tieren konnte auch ein Anstieg des Seruminsulins nachgewiesen werden. Da zwischen dem Ausmaß beider Effekte in vielen Fallen eine gute Übereinstimmung bestand, lag die Vermutung nahe, dass die blutzuckersenkende Wirkung aller drei Substanzen auf einer Stimulierung der Insulininkretion beruht. Hierfür sprach auch, dass das Maximum [illegible] oft mehr oder weniger deutlich dem Maximum der [illegible] Zuckersenkung vorausging.

Ein Anstieg der Insulinkonzentration im Serum des peripheren Blutes ist jedoch nicht beweisend für eine Stimulierung der Insulinabgabe. Es könnte sich auch um die Folgen einer Hemmung des Insulinabbaus handeln, für den vor allem in erster Linie die Leber verantwortlich ist. Zur weiteren Klärung dieser Frage wurde die Insulinkonzentration im Serum des Pankreasvenen- bzw. Pfortaderblutes nach intraven [illegible] Injektion der drei Substanzen bei Hunden und Ratten bestimmt, da die Konzentration des Hormons bei einer Stimulierung der Insulinabgabe in dem der Bauchspeichel [illegible] Systems [illegible] ansteigen [illegible].

Um eine Beeinflussung des Insulinstoffwechsels in der Leber durch die drei Sulfonamide auszuschliessen, wurde ausserdem bei Ratten der Insulingehalt im Serum des Pfortader- und peripheren Blutes verglichen.

1.2.1 Untersuchungen an H U N D E N .

Zur Bestimmung der Insulinkonzentration im Pankreasvenenblut von Hunden wurden Dosen verwendet, die im peripheren Venenblut zu einer kurzdauernden und geringen, aber deutlich nachweisbaren Steigerung des Seruminsulins geführt hatten (15,6 mg/kg Glymidin-Natrium, 0,0625 mg/kg Glydanil-Natrium, 0,031 mg/kg Glisoxamid) .
Wegen des versuchstechnischen Aufwandes wurde je Substanz nur ein Tier sowie eine Kontrolle untersucht.

Die Ergebnisse sind in absoluten Werten auf der Tab.28 und der Abb.24 dargestellt.
Man erkennt zunächst, dass die Ausgangswerte relativ hoch sind. Im peripheren Venenblut wurden am gleichen Hundekollektiv Nüchtern-Insulinwerte gemessen, die nur etwa 20 µE/ml betrugen (vergl. Tab.27). Dieser Befund ist verständlich, da in der Leber ein Teil des über die Pfortader aus der Bauspeicheldrüse einströmenden Insulins abgebaut wird.

Nach i.v. Injektion von physiologischer NaCl-Lösung kam es innerhalb weniger Minuten zu einem Anstieg des Seruminsulins auf das Doppelte des Vorwertes. Nach etwa 20 Minuten war das

Ausgangsniveau wieder erreicht. Im peripheren Venenblut war an einer größeren Anzahl von Tieren ein derartiger Befund nicht aufgefallen.

Die intravenöse Injektion von Glymidin-Natrium, Glydanil-Natrium und Glisoxamid hatte bei den verwendeten Dosen innerhalb von 3 - 5 Minuten eine Erhöhung der Insulinkonzentration im Serum des Pankreasvenenblutes um mehrere 100 µE/ml zur Folge. Bezogen auf den jeweiligen Ausgangswert bedeutete dies eine Steigerung auf das drei- bis fünffache.

Die Dauer des Effektes war unterschiedlich. Die Wirkung von Glydanil-Natrium hielt 30 Minuten an, unter dem Einfluß von Glymidin-Natrium fiel die Insulinkonzentration nach 15 Minuten wieder ab, um nach 60 Minuten erneut anzusteigen. Der Effekt von Glisoxamid war in unterschiedlicher Höhe während der gesamten Beobachtungsperiode nachweisbar.

Der primäre Anstieg innerhalb weniger Minuten deckt sich im Prinzip mit den Veränderungen des Seruminsulins im peripheren Venenblut. Dort war nach i.v. Injektion der gleichen Dosen die Insulinkonzentration innerhalb von 5 Minuten auf etwa 250 bis 300% des Ausgangswertes angestiegen, die absoluten Werte lagen allerdings entsprechend dem niedrigen Ausgangsniveau [illegible]

Insulinkonzentration im Serum des **Pankreasvenenblutes** nüchterner **Hunde** nach i. v. Injektion von **Glymidin-natrium, Glydanil-natrium** und **Glisoxamid**.

—— Kontrollen (phys. NaCl-Lösung)
---- Glymidin-Na (15,6 mg/kg)
---- Glydanil-Na (0,0625 mg/kg)
—— Glisoxamid (0,031 mg/kg)

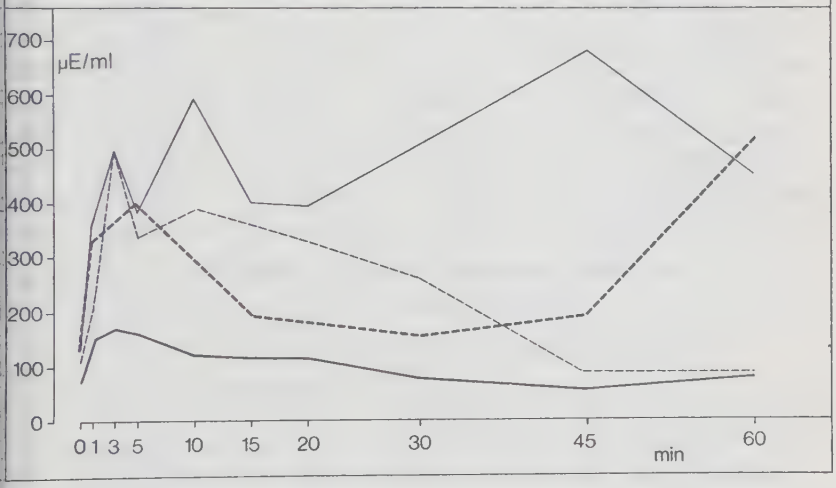


Abb. 24

geeignet, einige wesentliche Aussagen zu treffen:

1. Aus dem Vergleich der Kontrollen mit den behandelten Tieren ergibt sich, dass alle drei Substanzen zu einer Steigerung des Insulins in dem der Bauchspeicheldrüse unmittelbar nachgeschalteten Gefäßgebiet führten. Während bei den unbehandelten Tieren (d.h. nach Injektion von Na Cl-Lösung) das Seruminsulin eher etwas unter den Ausgangswert absank, reagierten die behandelten Ratten mit einer akut innerhalb von 1 - 3 Minuten auftretenden Insulinausschüttung.
2. Die jeweiligen Maxima wurden innerhalb der ersten 15 Minuten erreicht. Die Höhe dieser Maximalwerte war verschieden, eine exakte Beurteilung möglicher Unterschiede ist aber auf Grund der geringen Tierzahlen nicht möglich.
3. Der gleiche gilt für die unterschiedliche Dauer des Insulinanstieges unter dem Einfluß der drei Verbindungen. Eine Aussage erlauben nur die Ergebnisse nach Injektion der beiden verschiedenen Dosen von Glymidin-Natrium. Während 15 Minuten nach Gabe von 3,9 mg/kg Glymidin-Natrium das Ausgangsniveau wieder erreicht war, hielt der Effekt einer 4fach höheren Dosis (15,6 mg/kg) erheblich länger an. Noch nach einer Stunde war das Seruminsulin erhöht. Hier deutet sich eine Dosisabhängigkei an,die weniger die Höhe der akuten Insulinausschüttung innerhalb der ersten Minuten, sondern offenbar mehr die Dauer der Wirkung betrifft.

Zusammenfassend kann demnach festgestellt werden, dass Glymidin-Natrium, Glydanil-Natrium und Glisoxamid zu einer akuten, innerhalb weniger Minuten auftretenden Insulinausschüttung führt, die mit der hier gewählten Versuchsanordnung nachgewiesen werden konnte. Die Wirkung von 0,031 mg/ Glisoxamid, 0,0625 mg/kg Glydanil-Natrium und 15,6 mg/kg Glymidin-Natrium lag etwa in der gleichen Größenordnung.

Veränderung des **Seruminsulins** im Pfortaderblut nüchterner Ratten gegenüber dem Ausgangswert (µE/ml) nach i.v. Injektion von **Glisoxamid** (Glis.) **Glydanil-Na** (Glyd.) oder **Glymidin-Na** (Glyd.) ($\bar{x}$, n = 2)

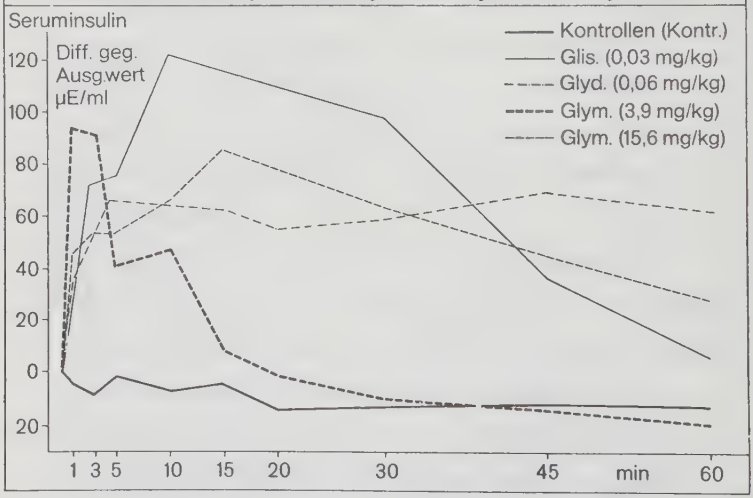


Abb. 25

.1.2.2.2 Einmalige Insulin- und Glucosebestimmung im Pfortaderblut verschiedener Tiere.

Um einen genaueren Einblick in die Zeit- und Dosisabhängigkeit der Insulinabgabe nach intravenöser Injektion der drei Substanzen sowie ihre maximale Wirksamkeit zu erhalten, wurden im Anschluß an diese orientierende Versuche ausgedehnte Experimente mit einer anderen Versuchsanordnung durchgeführt.

Nach intravenöser Injektion verschiedener Dosen der Verbindungen wurde den Ratten zu unterschiedlichen Zeitpunkten einmalig Blut aus der Pfortader entnommen. Neben der Insulinkonzentration wurde auch die Blutglucose bestimmt, da diese Versuche geeignet erschienen, die Beziehung zwischen der Erhöhung der Insulinkonzentration im Serum und der Erniedrigung der Blutzuckerkonzentration zu studieren.

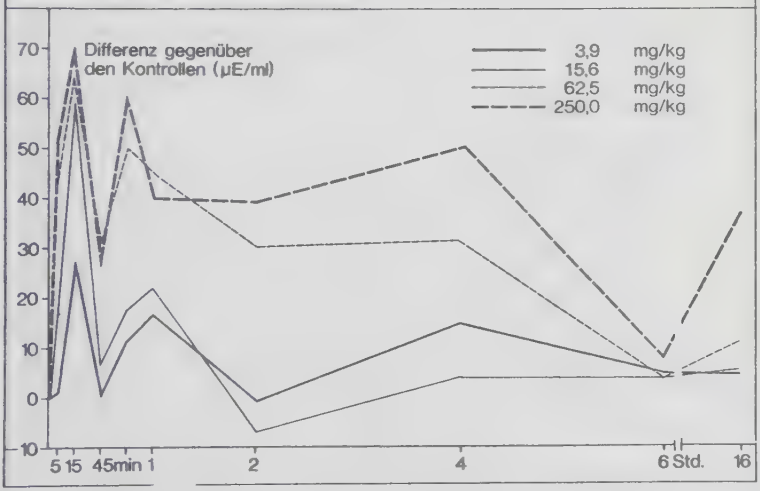
2.2.2.1 Insulinfreisetzung

Alle drei Verbindungen führten innerhalb weniger Minuten zu einer dosisabhängigen Steigerung der Insulinkonzentration im Serum des Pfortaderblutes. Das Maximum dieser akuten Insulinausschüttung trat bei Gabe von Glymidin-Natrium nach 15 Minuten auf, unter dem Einfluss der beiden anderen Substanzen bereits nach 5 Minuten (Tab. 29,30,31,32) . Der absolute maximale Anstieg gegenüber den Kontrollen war bei allen drei Verbindungen etwa gleich, wurde nach Injektion von 15,6 mg/kg Glymidin-Natrium, 0,0625 mg/kg Glydanil-Natrium und 0,0625 mg/kg Glisoxamid erreicht (Abb.26, 27,28) .

Danach kam es zu einem vorübergehenden Abfall des Serum-insulins und anschliessend zu einem erneuten Wiederanstieg, der sich ebenfalls dosisabhängig über mehrere Stunden nachweisen liess. Maximal wirksam waren in dieser Phase 250 mg/kg Glymidin-Natrium, 1 mg/kg Glydanil-Natrium und 0,25 mg/kg Glisoxamid. Aus diesem Grunde wurde darauf verzichtet, die jeweils höchsten Dosen (1000 mg/kg Glymidin-Natrium, 16 mg/kg Glydanil-Natrium, sowie 4 und 16 mg/kg Glisoxamid) über 60 Minuten hinaus weiter zu untersuchen. Nach 6 Stunden war das Kontrollniveau wieder erreicht. Allerdings wurden auch nach 16 Stunden noch signifikante Erhöhungen des Serum-insulins gegenüber den Kontrollen beobachtet, am stärksten war dieser Effekt nach Injektion von 250 mg/kg Glymidin-Natrium ausgeprägt. Grundsätzliche Unterschiede in der Wirkungsdauer zeigten sich jedoch nicht zwischen den drei Substanzen.

Die relativen Wirksamkeiten waren zu verschiedenen Zeiten unterschiedlich. Nach 5 Minuten war Glydanil-Natrium 1250 mal wirksamer als Glymidin-Natrium, Glisoxamid noch 1,6 mal effektiver als Glydanil-Natrium, nach 60 und 240 Minuten wurde zur Erzielung des gleichen Effektes eine gegenüber Glymidin-Natrium 50-70 fach geringere Dosis von Glydanil-Natrium benötigt. Glisoxamid war zu diesen Zeitpunkten noch 4-5 fach stärker wirksam als Glydanil-Natrium (Tab.33) .

Insulinkonzentration im Serum des Pfortaderblutes
nüchterner **Ratten**
nach i. v. Injektion von **Glymidin-natrium**

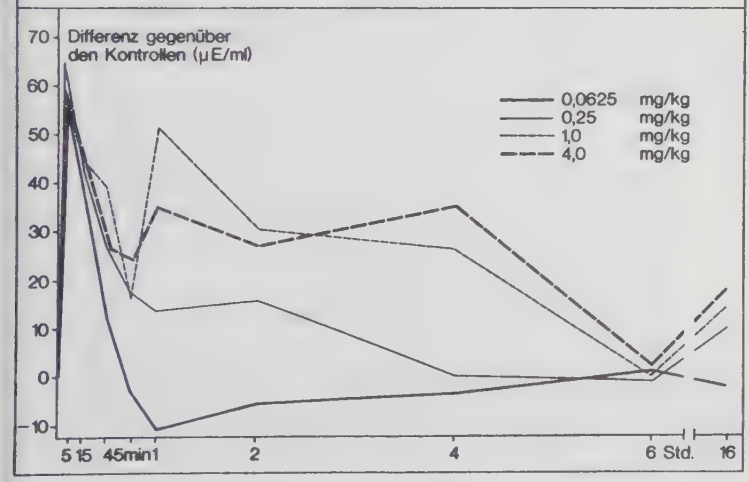


Insulinkonzentration im Serum (µE/ml) nüchterner Ratten nach i.v.-Injektion von Glymidin-natrium. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichung der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test: - = p > 0,05; + = p < 0,05; ++ = p < 0,02. (n = 15 Tiere/ Zeit und Dosis)

Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen mg/kg	5 Min.	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	120 Min.	240 Min.	360 Min.	16 Std.
0		28,6±3,1	29,6±3,8	22,4±1,7	28,3±2,2	46,4±4,2	18,9±1,9	25,7±2,6	7,7±1,1	7,9±1,5
3,9		30,0±1,8	56,4±5,6	22,9±3,8	39,5±3,2	63,0±4,6	18,0±3,3	40,6±4,0	12,3±1,3	12,3±2,4
	0	-	++	-	++	++	-	++	++	-
15,6		51,8±5,5	88,4±7,7	28,8±3,1	45,4±4,9	68,0±3,7	11,6±2.6	29,6±2,4	10,9±2,5	13,5±2.0
	0	++	++	-	++	++	-	-	-	-
	3,9	++	++	-	-	-	-	-	-	-
62,5		71,6±8,1	93,1±6,7	53,3±6,9	78,3±7,0	91,2±5,2	49,0±3,3	56,8±3,3	11,1±1,3	19,9±3,1
	0	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	3,9	++	++	++	++	++	++	++	-	-
	15,6	-	-	++	++	++	++	++	-	-
250		80,6±5,8	98,8±7,5	49,2±4,3	88,1±8,0	96,0±10,2	57,9±4,2	75,7±6,3	15,3±2,1	44,2±9,4
	0	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	3,9	++	++	++	++	++	++	++	-	++
	15,6	++	-	++	++	++	++	++	-	++
	62,5	-	-	-	-	-	-	++	-	++
1000		63,0±6,7	94,9±3,2	47,3±6,0	66,0±6,3	100,1±7,3	-.-.-	-.-.-	-.-.-	-.-.-
	0	++	++	++	++	++				
	3,9	++	++	++	++	++				
	15,6	-	-	-	+	++				
	62,5	-	-	-	-	++				
	250,0	-	-	-	+	-				

Tab. 29

Insulinkonzentration im Serum des Pfortaderblutes
nüchterner **Ratten**
nach i. v. Injektion von **Glydanil-natrium.**



Insulinkonzentration im Serum (µE/ml) nüchterner Ratten nach i.v.-Injektion von Glydanil-natrium. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test: - = $p > 0{,}05$; + = $p < 0{,}05$; ++ = $p < 0{,}02$. (n = 15 Tiere/Zeit und Dosis)

Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen:	5 Min.	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	120 Min.	240 Min.	360 Min.	16 Std.
0		28,6± 3,1	29,6±3,8	22,4±1,7	28,3±2,2	46,4±4,2	18,9±1,9	25,7±2,6	7,7±1,1	7,9±1,5
0,0625		84,1±11,2	68,8±7,4	34,3±4,4	25,1±1,8	35,4±2,8	13,1±2,1	21,5±1,8	8,5±1,6	5,7±1,3
	0	++	++	+	-	-	-	-	-	-
0,25		92,8± 8,0	78,2±8,7	49,1±5,3	45,3±4,4	59,8±4,1	34,4±3,1	25,3±4,6	6,6±1,0	17,9±4,0
	0	++	++	++	++	+	++	-	-	++
	0,0625	-	-	-	++	++	++	-	-	++
1,0		85,9±11,3	74,5±8,6	61,1±4,4	45,0±6,7	97,3±7,0	48,9±4,5	51,4±5,0	8,2±2,6	21,6±4,1
	0	++	++	++	++	++	++	++	-	++
	0,0625	-	-	++	++	++	++	++	-	++
	0,25	-	-	-	-	++	++	++	-	-
4,0		86,2±10,4	75,6±6,9	48,6±4,2	51,6±4,6	81,3±4,5	45,6±4,9	60,2±4,7	9,5±1,7	25,0±3,7
	0	++	++	++	++	++	++	++	-	++
	0,0625	-	-	+	++	++	++	++	-	++
	0,25	-	-	-	-	++	-	++	-	-
	1,0	-	-	+	-	-	-	-	-	-
16,0		94,2± 9,6	90,4±6,5	40,6±4,4	68,1±6,8	92,9±5,5	-.-.-	-.-.-	-.-.-	-.-.-
	0	++	++	++	++	++				
	0,0625	-	-	-	++	++				
	0,25	-	-	-	++	++				
	1,0	-	-	++	++	-				
	4,0	-	-	-	-	-				

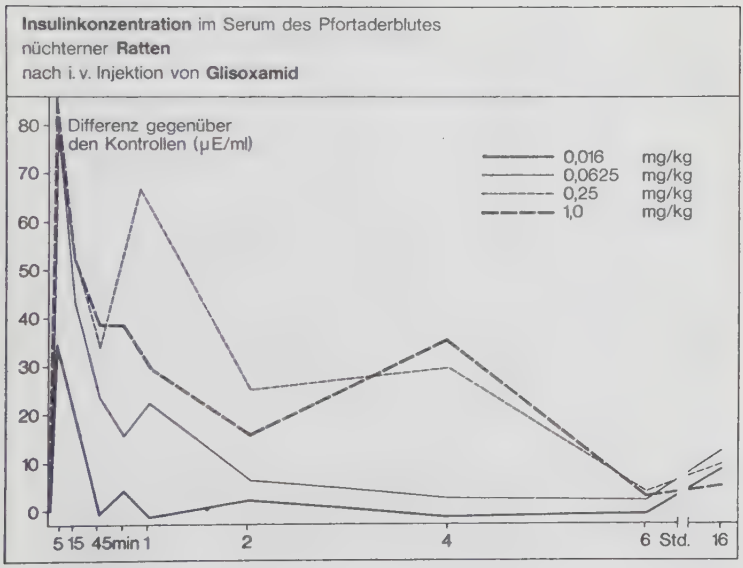

Insulinkonzentration im Serum des Pfortaderblutes
nüchterner Ratten
nach i. v. Injektion von Glisoxamid
Differenz gegenüber
den Kontrollen (µE/ml)
0,016 mg/kg
0,0625 mg/kg
0,25 mg/kg
1,0 mg/kg
80
70
60
50
40
30
20
10
0
5 15 45min 1
2
4
6 Std.
16

Abb. 28

Insulinkonzentration im Serum (µE/ml) nüchterner Ratten zu verschiedenen Zeiten nach iv. Injektion von Glisoxamid. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$) (n = 15 Tiere/Gruppe)

Dosis (mg/kg)	5 Min.	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	120 Min.	240 Min.	360 Min.	16 Std.
0	28,6 ± 3,1	53,1 ± 2,3	57,0 ± 2,2	53,8 ± 4,8	66,2 ± 3,4				
0,016	62,1 ± 5,1	63,9 ± 2,1	55,9 ± 1,9	58,0 ± 4,7	64,3 ± 5,0				
0	54,3 ± 1,9	44,5 ± 1,6	50,5 ± 3,2	58,0 ± 2,7	56,8 ± 3,2				
0,031	66,1 + 3,8	67,6 + 4,7	68,3 + 3,3	63,8 + 3,1	56,6 + 2,7				
0	28,6 ± 3,1	29,6 ± 3,8	22,5 ± 1,7	28,3 ± 2,2	46,4 ± 4,2	18,9 ± 1,9	25,7 ± 2,6	7,7 ± 1,1	7,9 ± 1,5
0,063	114,4 ±10,2	73,4 ± 8,3	45,6 ± 4,6	43,3 ± 3,9	68,2 ± 4,8	20,6 ± 2,5	24,3 ± 4,1	7,1 ± 1,2	16,4 ± 2,3
0,25	109,2 ± 6,4	81,8 ± 7,7	55,2 ± 8,6	68,0 ± 8,5	108,9 ± 8,6	24,7 ± 2,0	28,0 ± 2,8	9,9 ± 1,3	20,2 ± 3,4
1,0	113,2 ± 7,5	80,6 ±10,5	60,1 ± 7,5	65,9 ± 5,9	75,6 ± 7,5	43,5 ± 3,7	54,9 ± 5,6	11,6 ± 2,2	17,4 ± 1,8
4,0	88,1 ± 5,0	75,8 ± 7,8	65,3 ± 7,3	71,5 ± 4,4	93,3 ± 6,8	34,3 ± 4,3	60,2 ± 6,5	10,7 ± 0,9	13,1 ± 3,3
16,0	69,6 ± 8,1	56,3 ± 5,9	69,9 ± 7,7	58,1 ± 6,3	79,0 ± 5,5				

Tab. 31

i.v.-Injektion verschiedener Dosen Glisoxamid. Diese statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test: – = $p > 0,05$; + = $p < 0,05$; ++ = $p < 0,02$.

Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen mg/kg	5 Min.	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	120 Min.	240 Min.	360 Min.	16 Std.
0,016	0	++	++	–	–	–	–	–	–	++
0,031	0	+	++	–	–	–				
0,0625	0	++	++	++	++	++	+	–	–	++
	0,016	++					–	–	–	–
0,25	0	++	++	++	++	++	++	++	–	++
	0,016	++					++	++	–	–
	0,0625	–	–	–	+	++	++	++	–	–
1,0	0	++	++	++	++	++	++	++	+	–
	0,016	++					+	++	+	–
	0,0625	–	–	–	++	–	–	++	–	–
	0,25	–	–	–	–	++	–	–	–	–
4,0	0	++	++	++	++	++				
	0,016	++								
	0,0625	+	–	+	++	++				
	0,25	+	–	–	–	–				
	1,0	++	–	–	–	–				
16,0	0	++	++	++	++	++				
	0,016	–								
	0,0625	++	–	+	–	–				
	0,25	++	++	–	–	++				
	1,0	++	–	–	–	–				
	4,0	+	–	–	+	–				

Tab. 32

Vergleich der insulinfreisetzenden Wirkung +) von Glymidin-natriu
Glydanil-natrium und Glisoxamid bei 16 Stunden nüchternen Ratten
nach i.v. Injektion

Zeit nach i.v. Inj. (min)	Vergleichs-präparat	Test-präparat	Titer und 95%-Vertrauens grenzen
5	Glymidin-Na	Glydanil-Na	1248,7 (727,1 - 1770,3)
	Glymidin-Na	Glisoxamid	2098,8 (1334,8- 2862,8)
	Glydanil-Na	Glisoxamid	1,64 (1,01- 2,27)
60	Glymidin-Na	Glydanil-Na	68,2 (45,5 - 89,0)
	Glymidin-Na	Glisoxamid	353,2 (233,5 - 473,0)
	Glydanil-Na	Glisoxamid	5,1 (3,5 - 6,7)
240	Glymidin-Na	Glydanil-Na	51,6 (32,5 - 70,7)
	Glymidin-Na	Glisoxamid	233,2 (153,7 - 312,8)
	Glydanil-Na	Glisoxamid	4,5 (2,8 - 6,2)

+) Insulinkonzentration im Serum des Pfortaderblutes (µE/ml)

Die Berechnung der relativen Wirksamkeit (= Titer) des Testpräpa
gegenüber dem Vergleichspräparat erfolgte durch Gegenüberstellun
der Geraden, die sich bei Auftragung der Dosen und Wirkungen in
linearem Maßstab ergeben (Rechenprogramm: Vergleich nicht paral-
leler Dosiswirkungsgeraden).

Tab. 33

2.2.2.2 Blutzuckersenkung

Die Glucosekonzentration im Blut wurde durch alle drei Verbindungen dosisabhängig erniedrigt. (Tab. 34,35,36,37). Maximale Blutzuckersenkungen wurden 60 Minuten nach i.v. Injektion gemessen, traten also später auf als die stärksten Erhöhungen des Seruminsulins. Die Blutzuckerminima lagen nach Gabe aller drei Substanzen zwischen 30 und 40% des Kontrollwertes (Abb. 29,30,31) . Sie wurden unter dem Einfluß von 62,5 mg/kg Glymidin-Natrium, 0,25 mg/kg Glydanil-Natrium und 0,0625 mg/kg Glisoxamid erreicht. In Abhängigkeit von der applizierten Dosis stieg die Blutglucose bis zur 6. Stunde mit verschiedener Geschwindigkeit wieder an. Nach 16 Stunden war in allen Fällen das Kontrollniveau wieder erreicht, nur nach Gabe von 250 mg/kg Glymidin-Natrium bestand auch zu diesem Zeitpunkt noch eine erhebliche Senkung gegenüber dem Kontrollwert.

Diese Befunde zeigen, dass die primäre starke Insulinfreisetzung offenbar für die Geschwindigkeit des Blutzuckerabfalls verantwortlich war, während die Aufrechterhaltung einer mäßigen Blutzuckersenkung über mehrere Stunden von der plateauartigen Steigerung des Seruminsulins abzuhängen scheint, die in dem dem Pankreas unmittelbar nachgeschalteten Gefäßsystem während des gleichen Zeitraumes nachweisbar war.

.2.2.3 Die Berechnung der Dosiswirkungskurven ergab, dass nach 2 Stunden Glydanil-Natrium etwa 115 mal wirksamer war als

Glymidin-Natrium, nach 4 Stunden lag der Unterschied bei einem Wert von 240. Die relative Wirksamkeit von Glisoxamid war noch größer. Nach 2 Stunden wurde ein gleicher Effekt mit einer gegenüber Glydanil-Natrium 1,5 fach, nach 4 Stunden 3,7 fach geringeren Dosis erzielt. Zu anderen Zeitpunkten war eine Berechnung der Dosiswirkungsbeziehungen nicht möglich, da die Dosiswirkungskurve entweder nicht linear oder die Regressionen nicht signifikant waren (Tab.38) .

Zusammenfassend zeigen diese Befunde, dass die drei Sulfonamide zu einer dosisabhängigen Steigerung der Insulinkonzentration im Serum des Pfortaderblutes von Ratten führen. Dies spricht in Übereinstimmung mit der Erhöhung des Seruminsulins im Pankreasvenenblut von Hunden nach i.v. Injektion der Verbindungen dafür, dass Glymidin-Natrium, Glydanil-Natrium und Glisoxamid die Insulinsekretion stimulieren.

3.1.2.2.3 <u>Vergleich der Insulinkonzentration im Serum des Pfortader- und peripheren Blutes.</u>

Eine zusätzliche Hemmung des Insulinabbaus in der Leber als Ursache der erhöhten Insulinkonzentration im Serum erscheint unwahrscheinlich. Diese Folgerung ergibt sich aus Versuchen, in denen gleichzeitig die Insulinkonzentration im Serum des Pfortader- und peripheren Blutes nach Injektion hoher Dosen der drei Pharmaka gemessen wurde (Abb. 32). In beiden Gefäßsystemen stieg der Insulingehalt signifikant gegenüber den Kontrollen an. Ausserdem war die prozentuale

Abnahme der Insulinkonzentration im peripheren Blut gegenüber dem Hormongehalt des Pfortaderblutes bei behande und nicht behandelten Tieren gleich. Eine höhere Insulinsekretion ging damit auch mit einem entsprechend höheren Insulinabbau in der Leber einher.

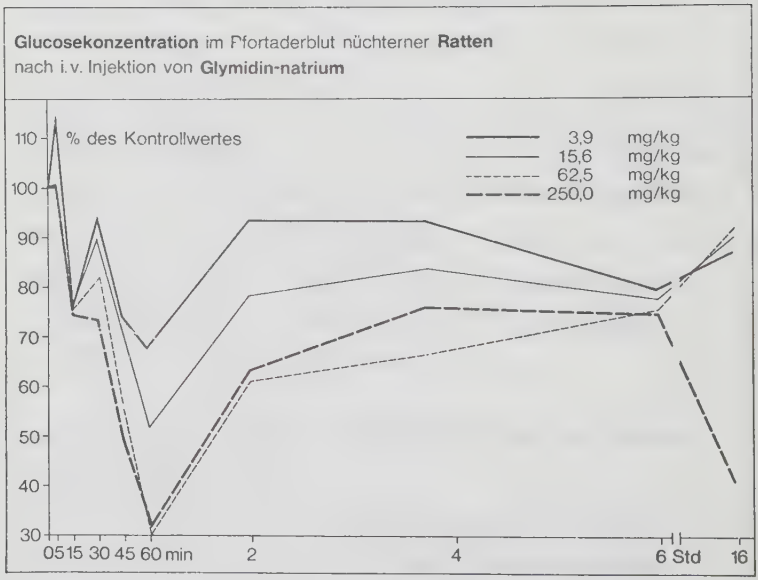

Glucosekonzentration im Pfortaderblut nüchterner Ratten
nach i.v. Injektion von Glymidin-natrium
% des Kontrollwertes
3,9 mg/kg
15,6 mg/kg
62,5 mg/kg
250,0 mg/kg
110
100
90
80
70
60
50
40
30
0 5 15 30 45 60 min
2
4
6 Std
16

Abb. 29

sche Beurteilung erfolgte nach dem U-Test: - = p > 0,05; + = p < 0.05; ++ = p < 0,02. (n = 15 Tiere/Zeit und Dosis)

Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen mg/kg	5 Min.	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	120 Min.	240 Min.	360 Min.	16 Std.
0		77,3±2,3	54,4±2,0	66,6±1,6	52,4±2,1	51,6±1,6	55,8±2,1	48,3±1,6	51,9±3,2	55,2±1,7
3,9		79,3±2,2	41,4±3,2	62,5±1,9	38,9±2,6	35,1±2,1	52,5±1,7	45,2±1,7	41,5±1,9	48,6±2,2
	0	-	++	-	++	++	-	-	++	-
15,6		80,4±2,2	41,7±1,3	60,1±2,1	36,8±1,8	26,6±3,7	43,8±2,3	40,6±1,3	40,4±2,0	49,[illegible]
	0	-	++	-	++	++	++	++	++	-
	3,9	-	-	-	-	-	++	-	-	-
62,5		77,3±1,5	41,0±2,0	54,4±3,0	29,4±2,2	15,5±2,2	34,2±2,3	32,2±0,9	39,4±2,[illegible]	[illegible]
	0	-	++	++	++	++	++	++	++	-
	3,9	-	-	-	++	++	++	++	-	-
	15,6	-	-	-	+	+	++	++	-	-
250		77,2±2,3	40,6±2,5	49,0±3,8	25,7±1,9	16,8±2,7	35,5±1,6	36,8±3,6	38,8±2,9	22,[illegible]
	0	-	++	++	++	++	++	++	++	++
	3,9	-	-	++	++	++	++	++	-	++
	15,6	-	-	++	++	-	++	++	-	++
	62,5	-	-	-	-	-	-	-	-	++
1000		76,4±1,6	41,1±2,3	46,0±3,3	29,1±1,7	22,0±3,0	-.-.-	-.-.-	-.-.-	-.-.-
	0	-	++	++	++	++				
	3,9	-	-	++	++	++				
	15,6	-	-	++	++	-				
	62,5	-	-	-	-	-				
	250,0	-	-	-	-	-				

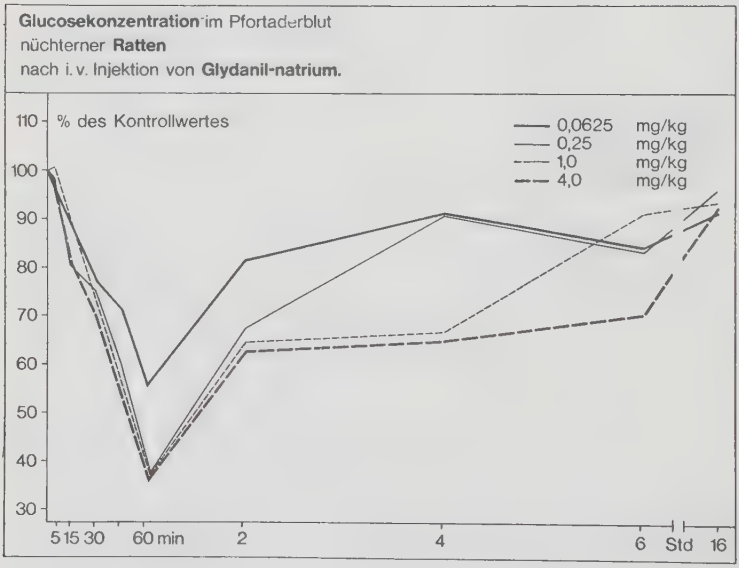

Glucosekonzentration im Pfortaderblut
nüchterner Ratten
nach i. v. Injektion von Glydanil-natrium.
% des Kontrollwertes
0,0625 mg/kg
0,25 mg/kg
1,0 mg/kg
4,0 mg/kg
110
100
90
80
70
60
50
40
30
5 15 30 60 min 2 4 6 Std 16

Abb. 30

Glucosekonzentration im Blut (mg%) nüchterner Ratten nach i.v.-Injektion von Glydanil-natrium. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test: - = p > 0,05; + = p < 0,05; ++ = p < 0,02. (n = 15 Tiere/ Zeit und Dosis)

Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen mg/kg	5 Min.	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	120 Min.	240 Min.	360 Min.	16 Std.
0		77,3±2,3	54,4±2,0	66,6±1,6	52,4±2,1	51,6±1,6	55,8±2,1	48,3±1,6	51,9±3,8	55,1±1,7
0,0625		75,0±2,2	49,4±1,8	52,7±3,0	38,6±1,7	30,1±2,4	47,0±2,4	45,1±1,5	45,0±2,3	51,7±2,2
	0	-	-	++	++	++	++	-	-	-
0,25		75,6±1,9	45,7±1,8	51,5±2,6	32,8±1,5	20,3±1,5	39,1±1,9	45,0±1,7	44,6±2,2	54,3±1,8
	0	-	++	++	++	++	++	-	-	-
	0,0625	-	-	-	+	++	++	-	-	-
1,0		77,7±1,7	49,4±1,4	49,7±2,7	32,1±1,9	19,9±1,7	37,5±2,8	33,5±1,2	48,6±2,2	52,9±2,2
	0	-	-	++	++	++	++	++	-	-
	0,0625	-	-	-	-	++	++	++	-	-
	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4,0		76,5±2,8	46,8±2,0	48,7±3,4	29,2±1,2	19,8±1,8	36,4±1,8	32,6±1,2	37,9±1,1	52,3±2,4
	0	-	++	++	++	++	++	++	++	-
	0,0625	-	-	-	++	++	++	++	++	-
	0,25	-	-	-	-	-	-	++	+	-
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	++	-
16,0		78,2±1,3	46,9±3,0	50,4±2,2	34,3±1,1	16,1±1,7	-.-.-	-.-.-	-.-.-	-.-.-
	0	-	++	++	++	++				
	0,0625	-	-	-	-	++				
	0,25	-	-	-	-	-				
	1,0	-	-	-	-	-				
	4,0	-	-	-	++	-				

Tab. 35

Glucosekonzentration im Pfortaderblut nüchterner **Ratten** nach i.v. Injektion von **Glisoxamid.**

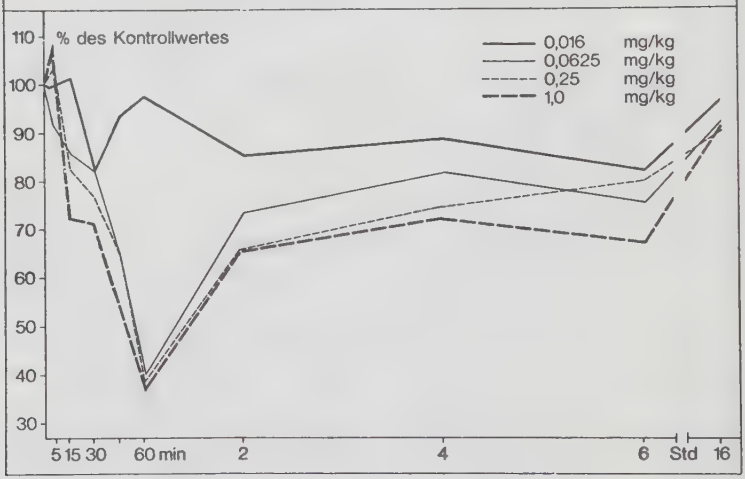


Abb. 31

von Glisoxamid. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). (n = 15 Tiere/Gruppe).

Dosis (mg/kg)	5 Min.	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	120 Min.	240 Min.	360 Min.	16 Std.
0	77,9 ± 2,3	63,5 ± 2,7	65,3 ± 2,0	53,8 ± 1,2	50,5 ± 1,0				
0,016	76,9 ± 2,6	64,2 ± 3,4	53,5 ± 2,5	50,2 ± 1,3	49,2 ± 3,1				
0	64,3 ± 2,3	70,1 ± 1,0	58,1 ± 1,3	58,3 ± 1,2	58,4 ± 1,7				
0,031	60,6 ± 2,8	61,9 ± 1,4	49,4 ± 1,2	46,3 ± 1,6	43,5 ± 1,2				
0	77,9 ± 2,3	54,4 ± 2,0	66,6 ± 1,6	52,4 ± 2,1	51,6 ± 1,6	55,8 ± 2,1	48,3 ± 1,6	51,9 ± 3,8	55,1 ± 1,7
0,0625	70,9 ± 1,2	46,7 ± 2,5	54,9 ± 4,4	33,7 ± 1,5	20,6 ± 1,7	47,7 ± 2,2	42,8 ± 1,3	42,7 ± 1,6	53,5 ± 2,5
0,25	80,0 ± 1,1	44,8 ± 2,6	50,8 ± 2,5	30,9 ± 1,6	19,5 ± 1,5	41,0 ± 2,0	39,5 ± 2,7	38,8 ± 2,0	50,9 ± 2,9
1,0	82,4 ± 2,7	39,2 ± 1,5	47,3 ± 2,5	31,5 ± 1,9	19,0 ± 1,7	36,7 ± 2,1	36,2 ± 2,1	41,6 ± 1,5	50,1 ± 2,7
4,0	78,2 ± 3,0	40,6 ± 1,5	53,0 ± 5,3	33,5 ± 1,4	18,3 ± 2,2	36,7 ± 2,0	35,2 ± 1,5	35,2 ± 1,2	50,4 ± 3,0
16,0	77,1 ± 3,5	39,4 ± 2,6	51,2 ± 3,2	32,1 ± 1,8	16,2 ± 2,8				

Tab. 36

Einfluß von **Glymidin-natrium**[1], **Glydanil-natrium**[2] und **Glisoxamid**[2] auf die Insulinkonzentration im Serum des **Pfortaderblutes** (Pf. A.) und des **peripheren Venenblutes** (per. V.) nüchterner **Ratten.**
($\bar{x} + s_{\bar{x}}$, −: $p > 0{,}05$, +: $p < 0{,}05$, ++: $p < 0{,}02$)
([1]250 mg/kg, i. p., 30 min, [2] 16 mg/kg, i. p., 30 min)

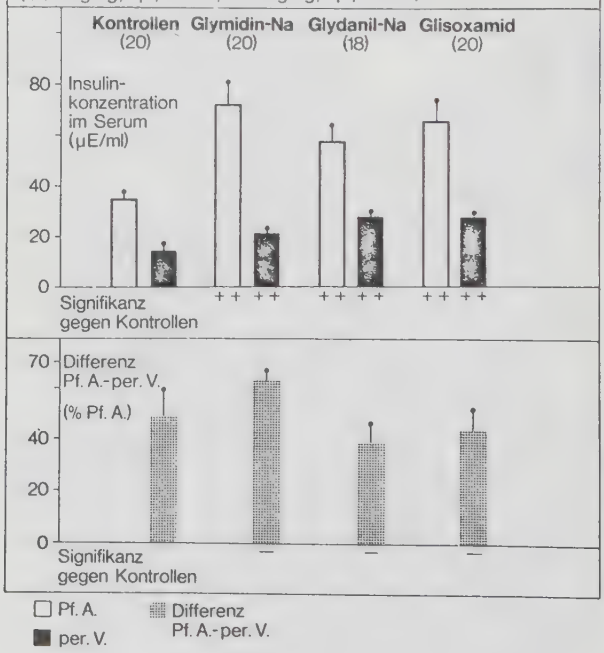


Abb. 32

U-Test: - = p > 0,05; + = p < 0,05; ++ = p < 0,02.

Dosis (mg/kg)	Signifikanz gegen mg/kg	5 Min.	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	120 Min.	240 Min.	360 Min.	15-30
0,016	0	-	-	++	-	-	+	+	++	-
0,031	0	-	++	++	++	++				
0,062	0	+	+	++	++	++	++	++	++	-
	0,016	-				-	+	-	-	-
0,25	0	-	+	++	++	++	++	++	++	-
	0,016	-				-	++	+	-	-
	0,063	++	-	-	-	-	-	-	-	-
1,0	0	-	++	++	++	++	++	++	++	-
	0,016	-				-	++	++	++	-
	0,063	++	+	-	-	-	-	-	-	-
	0,25	-	+	-	-	-	-	-	++	-
4,0	0	-	++	++	++	++				
	0,016	-								
	0,063	+	-	-	-	-				
	0,25	-	-	-	-	-				
	1,0	-	-	-	-	-				
16,0	0	-	++	++	++	++				
	0,016	-								
	0,063	-	-	-	-	-				
	0,25	-	-	-	-	-				
	1,0	-	-	-	-	-				
	4,0	-	-	-	-	-				

Tab. 37

Vergleich der blutzuckersenkenden Wirkung +) von Glymidin-natrium Glydanil-natrium und Glisoxamid bei 16 Stunden nüchternen Ratten nach i.v. Injektion

Zeit nach i.v. Inj. (min)	Vergleichs-präparat	Test-präparat	Titer und 95%-Vertrauensgrenzen
120	Glymidin-Na	Glydanil-Na	114,9 (62,9 - 208,3)
	Glydanil-Na	Glisoxamid	1,47 (1,15 - 2,03)
240	Glymidin-Na	Glisoxamid	238,1 (100,0 - 555,6)
	Glydanil-Na	Glisoxamid	3,66 (2,53 - 6,56)

+) Glucosekonzentration im Pfortaderblut (mg%)

Die Berechnung der relativen Wirksamkeit (= Titer) des Testpräparates gegenüber dem Vergleichspräparat erfolgte durch Gegenüberstellung der Dosiswirkungsgeraden (Dosis in logarithmischem, Wirkung +) in linearem Maßstab. Rechenprogramm: Vergleich paralle ler oder nicht paralleler Dosiswirkungsgeraden). Eine Berechnung der Wirkungsunterschiede zu anderen Zeiten nach i.v. Injektion der Substanzen war nicht möglich, da keine linearen Dosiswirkungsbeziehungen hergestellt werden konnten.

Tab. 38

.2 Nachweis einer fehlenden oder herabgesetzten Blutzucker-senkenden Wirkung von GLYMIDIN-NATRIUM, GLYDANIL-NATRIUM und GLISOXAMID bei eingeschränkter oder ausgeschalteter Funktion der B - Zellen.

Die bisher dargestellten Befunde zeigen, dass die blutzuckersenkende Wirkung von Glymidin-Natrium, Glydanil-Natrium und Glisoxamid mit einer Steigerung der Insulinsekretion einhergeht. Die in den meisten Fällen erkennbare Relation zwischen dem Anstieg des Seruminsulins und dem Abfall der Blutglucose, sowie die Tatsache, daß die höchsten Insulinkonzentrationen kurze Zeit vor dem steilsten Abfall der Glucosekonzentration gemessen wurden, spricht dafür, daß die Beeinflussung des Kohlenhydratstoffwechsels als ursächliche Folge der erhöhten Insulinkonzentration anzusehen ist. Auf Grund von Versuchen an intakten Tieren kann jedoch nicht entschieden werden, ob die untersuchten Verbindungen zusätzlich eine direkte periphere Wirkung besitzen, d.h. die Glucoseutilisation in der Skeletmuskelatur selbst steigern kann oder die Wirkung von Insulin auf die Glucoseaufnahme in diesem Gewebe verbessern.

Zum Ausschluß einer derartigen Wirkung wurden Versuche an Tieren mit aufgehobener oder eingeschränkter Funktionsfähigkeit des Inselorgans durchgeführt.

3.2.1 Untersuchungen an pankreatektomierten Hunden:

Weder Glymidin-Natrium noch die beiden neuen Substanzen erniedrigten bei diesen Tieren die Blutzuckerkonzentration. Während bei intakten Tieren 60 Minuten nach intravenöser Injektion der verwendeten Dosen die Glucosekonzentration im Blut unter die Hälfte des Ausgangswertes abgesunken war (Tab. 18,19,20), blieb nach Entfernung der Bauchspeicheldrüse die Blutglucose nahezu unverändert (Tab. 39). Wie unter diesen Bedingungen nicht anders zu erwarten war, kam es nach Injektion der drei Verbindungen auch nicht zu einem Anstieg des Seruminsulins(Abb.33). In den meisten Versuchen war überhaupt kein Insulin nachweisbar, in einigen Fällen ergab die Bestimmungsmethode über die gesamte Versuchsdauer eine gleichbleibende geringe, an der unteren Grenze der Nachweisbarkeit liegende radioimmunologische Aktivität des Hormons im Serum (unter 10 µE/ml).

3.2.2 Untersuchungen an streptozotocindiabetischen Ratten.

Streptozotocin ist ein Antibiotikum aus Streptomyces aromogenes, das eine nahezu selektive Zerstörung der ß -Zellen in den Langerhans'schen Inseln hervorruft (JUNOD, LAMBERT, ORCI, PICET, GONET und RENOLD, 1967). Streptozotocindiabetische Ratten wurden 2 Tage nach Injektion von 100 mg/kg dieses Glucosaminderivates verwendet. Zu diesem Zeitpunkt betrug die Blutglucose nach 16 stündigem Futterentzug im

		Vor-wert	min. nach i. v. Injektion									
			1	3	5	10	15	20	30	45	60	120
Kontrollen	mg%	306,1 ±34,6	309,1 ±33,4	320,0 ±35,5	318,7 ±30,8	313,4 ±25,0	322,1 ±26,4	337,6 ±24,2	352,8 ±33,2	355.2 ±24,9	341,3 ±38.0	327,4 ±20.3
	% Ausgangswert	100,0	101,1 ±0,7	104,6 ±2,0	104,5 ±3,1	103,1 ±3,2	105,9 ±3,1	111,3 ±5,0	115,7 ±2,0	117,1 ±5,6	115.5 ±2,7	108,2 ±6.4
Glymidin-Na	mg%	275,0 ±13,4	288.1 ±3,9	288,0 ±12,6	274,8 ±13,7	275,3 ±12,4	273,8 ±11,4	272,9 ±12.8	283,7 ±12,5	269,8 ± 2,9	263,1 ±4,2	255,9 ±6.5
	sig.niedr.als Ko.	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	- (n=2)
	% Ausgangswert	100,0	105,1 ±3,9	104,8 ±0,9	99,9 ±1,1	100,2 ±3,3	99,6 ±1,6	99,3 ±0,8	103,3 ± 1,3	98,5 ±4,1	96,2 ±5,2	93,8 ±10,3
	sig.niedr.als Ko.		–	–	–	–	–	–	+	+	+	– (n=2)
Glydanil-Na	mg%	196,6 ±61,9	201,6 ±66,7	209,9 ±70,5	205,4 ±68,6	204,9 ±65,9	216,3 ±66,4	230,3 ±67,7	222,6 ±63,8	224,9 ±61,4	231.4 ±67.1	281.8
	sig.niedr.als Ko	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	(n=1)
	% Ausgangswert	100,0	100,5 ±3,2	103,9 ±4,5	101,9 ±4,4	103,4 ±3,5	103,4 ±3,5	120,3 ±5,0	117,3 ±6,8	120,9 ±11,2	117.4 ±12,5	105.4
	sig.niedr.als Ko		–	–	–	–	–	–	–	–	–	(n=1)
Glisoxamid	mg%	284,1 ±32,5	285,4 ±26,9	287,3 ±20,2	287,3 ±20,2	299,3 ±29,2	304,0 ±27,7	299,1 ±26,5	296,2 ±28,3	308,5 ±26,8	302,7 ±33.6	319.9 ±55,7
	sig.niedr.als Ko	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	% Ausgangswert	100,0	100,9 ± 2,4	100,8 ±3,3	102,3 ±5,8	106,0 ±4,5	107,9 ±5,9	106,2 ±5,0	104,9 ±4,3	109,6 ±6,5	106,9 ±4,4	111.5 ±8.0
	sig.niedr.als Ko		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Tab.39

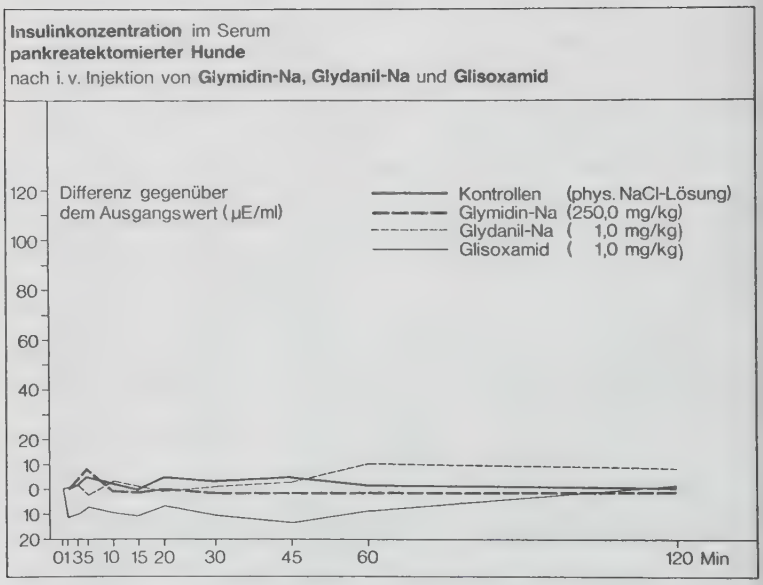

Insulinkonzentration im Serum
pankreatektomierter Hunde
nach i. v. Injektion von Glymidin-Na, Glydanil-Na und Glisoxamid
Differenz gegenüber
dem Ausgangswert (µE/ml)
Kontrollen (phys. NaCl-Lösung)
Glymidin-Na (250,0 mg/kg)
Glydanil-Na (1,0 mg/kg)
Glisoxamid (1,0 mg/kg)
120
100
80
60
40
20
10
0
10
20
0 1 3 5 10 15 20 30 45 60 120 Min

Abb. 35

Mittel 200 bis 260 mg%, die Insulinkonzentration im Serum war gegenüber intakten Tieren mit einem Mittelwert von 45 µE/ml auf etwa 15 µE/ml abgesunken.
Eine Stunde nach intravenöser Injektion von 250 mg/kg Glymidine-Natrium, 1mg/kg Glydanil-Natrium oder 1mg/kg Glisoxamid wurde keine Beeinflussung der Blutglucose gegenüber umbehandelten diabetischen Ratten gemessen. Zum gleichen Zeitpunkt wurde bei intakten Tieren nach Gabe der Substanzen eine Abnahme des Blutzuckers um mehr als 50% des Kontrollwertes gemessen (Tab.40). Während die normalen Tiere mit einer Steigerung des Seruminsulins auf Konzentrationen zwischen 80 und 100 µE/ml reagierten, wurde bei den diabetischen Ratten kein oder nur ein geringer Anstieg der Seruminsulinkonzentration gemessen (Tab.40, Abb.34).
Diese Versuche zeigen, daß nach operativer oder medikamentöser Ausschaltung der Funktion des Inselorgans die drei Substanzen auch in sehr hohen Dosen nicht mehr die Glucosekonzentration im Blut erniedrigen. Dies spricht gegen eine direkte Beeinflussung der peripheren Glucoseaufnahme durch die ß - cytotropen Sulfonamide.

3.2.3 Untersuchungen an spontandiabetischen chinesischen Streifenhamstern.

Die gleiche Schlußfolgerung erlauben Experimente an spontandiabetischen chinesischen Streifenhamstern. Diese Erkrankung beruht auf einer genetisch bedingten Degeneration der ß -Zellen

Einfluß von **Glymidin-natrium, Glydanil-natrium** und **Glisoxamid** auf die Insulinkonzentration im Serum des Pfortaderblutes normaler und streptozotocin-diabetischer[1] **Ratten.** ([1] 100 mg/kg, i.v., 2 Tage) ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, ++: $p < 0{,}02$, −: $p > 0{,}05$)

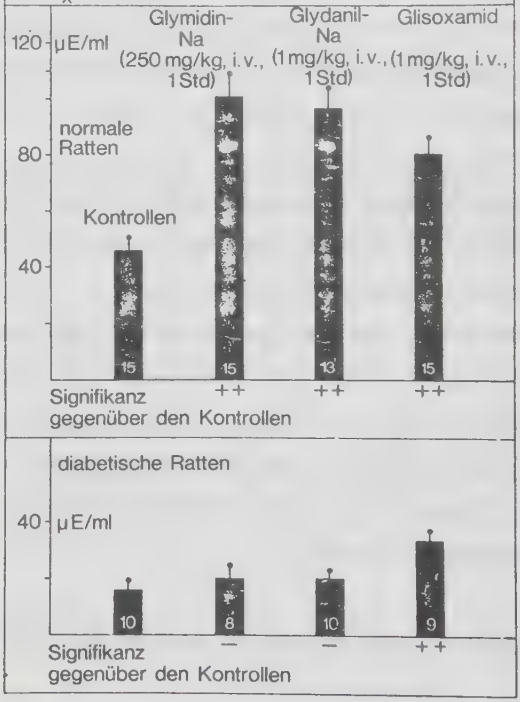


Abb. 34

Insulinkonzentration im Serum (µE/ml) und Glucosekonzentration im Blut (mg%) der Pfortader 16 Stunden nüchterner normaler und streptozotocindiabetischer (100 mg/kg i.v., 2 Tage) Ratten 60 Minuten nach i.v. Injektion von Glymidin-natrium (250 mg/kg), Glydanil-natrium (1 mg/kg) und Glisoxamid (1 mg/kg). ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$; Statistik: U-Test; - = $p > 0,05$; + = $p < 0,05$; ++ = $p < 0,02$).

Substanz	Seruminsulin	Blutglucose
	normale Tiere	
Kontrollen (n = 15)	46,4 ± 4,2	51,6 ± 1,6
Glymidin-Na (n = 15)	96,0 ± 10,2	16,8 ± 2,7
Signifikanz gegen Kontr.	++	++
Glydanil-Na (n = 15)	97,3 ± 7,0	19,9 ± 1,7
Signifikanz gegen Kontr.	++	++
Glisoxamid (n = 14)	81,0 ± 5,6	19,0 ± 1,7
Signifikanz gegen Kontr.	++	++
	diabetische Tiere	
Kontrollen (n = 10)	15,8 ± 3,2	208,3 ± 23,6
Glymidin-Na (n = 8)	19,9 ± 4,1	238,2 ± 16,9
Signifikanz gegen Kontr.	-	-
Glydanil-Na (n = 10)	19,7 ± 2,2	264,5 ± 14,1
Signifikanz gegen Kontr.	-	-
Glisoxamid (n = 9)	33,1 ± 3,4	228,8 ± 18,0
Signifikanz gegen Kontr.	++	-

Tab. 40

in den Langerhans'schen Inseln (MEIER und YERGANIAN, 1959; BUTLER, 1967 ; SIMS und LANDAU, 1967; CARPENTER, GERRITSEN, DULIN und LAZAROW, 1967).

Die Tiere zeigen gegenüber gesunden Hamstern Symptome eines Insulinmangels (Hyperglykämie, pathologische Glucosetoleranz, herabgesetzte Glucoseoxydation zu CO_2 durch Muskelgewebe in vitro, Anstieg der Konzentration freier Fettsäuren im Serum, Anstieg der Glucose-6-Phosphatase in der Leber (SIMS und LANDAU, 1967 ; LOSERT, LOGE und RICHTER, 1970).

Die Insulinkonzentration im Serum diabetischer Hamster ist zwar absolut im Vergleich zu gesunden Tieren nicht erniedrigt, in Bezug auf die Blutzuckerkonzentration jedoch zu gering. Nach oraler Gabe von Glucose kommt es überhaupt nicht oder nur zu einer geringen Steigerung des Seruminsulins(GERRITSEN, und DULIN, 1967 ; LOSERT, LOGE und RICHTER, 1970) . Eine Einschränkung der durch Glucose stimulierbaren Insulinsekretion wurde auch in vitro an Pankreasschnitten nachgewiesen (MALAISSE, MALAISSE-LAGAE, GERRITSEN, DULIN und WRIGHT, 1967).

Wie die Abb. 35,36 und 37 zeigen, war auch die Ansprechbarkeit der Bauchspeicheldrüse gegenüber ß - cytotropen Sulfonamiden herabgesetzt. Normale Hamster reagierten innerhalb von 30 Minuten auf eine orale Gabe von 250 mg/kg Glymidin-Natrium oder 1 mg/kg Glydanil-Natrium oder 1 mg/kg Glisoxamid mit einer deutlichen Steigerung des Seruminsulins, die auch durch eine Erhöhung der Dosis auf 16 mg/kg Glydanil-Natrium

[illegible] Minuten hatte der Effekt wieder nachgelassen. Zu diesem Zeitpunkt wurden gegenüber den Kontrollen keine erhöhten Werte mehr gemessen.

Bei diabetischen Tieren kam es nach Gabe von 250 mg/kg Glymidin-Natrium weder nach 30 noch nach 60 Minuten zu einer signifikanten Steigerung des Seruminsulins. Glydanil-Natrium und Glisoxamid waren lediglich in höheren Dosen (16 mg/kg) wirksam. 1 mg/kg beider Substanzen führte nicht zu einem Anstieg des Seruminsulins.

Diese weitgehend eingeschränkte Insulinsekretion ging auch mit einer herabgesetzten oder fehlenden blutzuckersenkenden Wirkung der drei Substanzen einher.

Vorversuche hatten ergeben, dass 30 Minuten nach oraler Gabe der Pharmaka bei deutlich nachweisbarer Insulinausschüttung der Blutzucker noch gar nicht oder erst geringfügig abgenommen hatte, sodass ein Vergleich zwischen normalen und diabetischen Tieren erst nach 60 Minuten sinnvoll erschien (Tab.41).

Zu diesem Zeitpunkt hatte bei normalen Tieren die Blutglucose nach Gabe von 62,5 mg/kg oder 250 mg/kg Glymidin-Natrium, 1 mg/kg oder 4 mg/kg Glydanil-Natrium bzw. Glisoxamid zwischen 20 und 45% gegenüber den Kontrollen abgenommen.

Bei diabetischen Tieren wurde dagegen unter dem Einfluß gleich hoher oder viermal höherer Dosen (Glisoxamid) keine Erniedrigung der Blutglucose beobachtet. Lediglich nach Gabe von 16 mg/kg Glydanil-Natrium lagen zu diesem Zeitpunkt die

Glucosekonzentrationen signifikant unter dem Kontrollniveau, allerdings war auch in diesem Fall der Effekt geringer als mit einer vierfach niedrigeren Dosis bei intakten Tieren. Es ist nicht auszuschliessen, dass die diabetische Stoffwechselstörung einiger Tiere dieser Gruppe nicht so hochgradig war, wie die der übrigen Hamster. Hierfür spricht, dass in dieser Gruppe z.T. auch höhere Insulinkonzentrationen im Serum gemessen wurden.

Insgesamt lassen diese Versuche den Schluß zu, dass die drei ß - cytotropen Sulfonamide nur in den Fällen die Glucosekonzentration im Blut senken, in denen sie auch zu einer Stimulierung der Insulinsekretion geführt haben. Eine Verstärkung der blutzuckersenkenden Wirkung des vermindert abgegebenen Insulins ist dagegen auf Grund der vorliegenden Resultate unwahrscheinlich.

Einfluß von **Glymidin-Na** auf die Insulinkonzentration im Serum normaler und spontandiabetischer **chinesischer Streifenhamster** ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, +: $p < 0{,}05$)

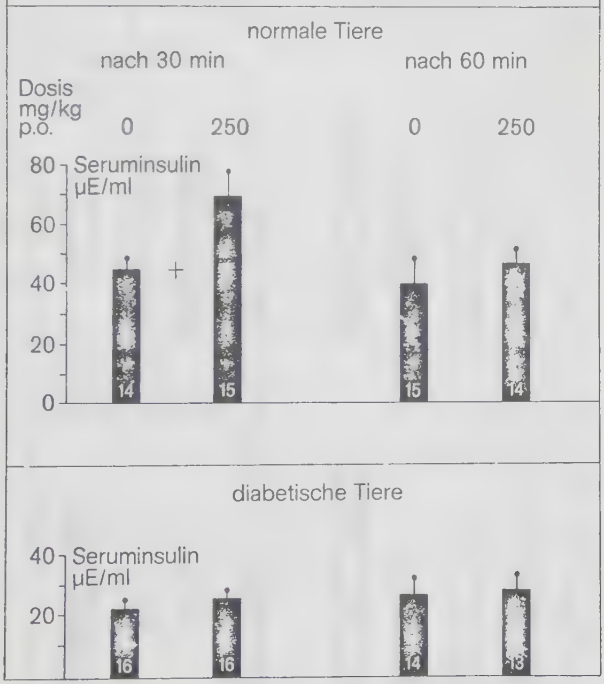


Abb. 35

Einfluß von **Glydanil-Na** auf die Insulinkonzentration im Serum normaler und spontandiabetischer **chinesischer Streifenhamster** ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, ++: $p<0{,}02$)

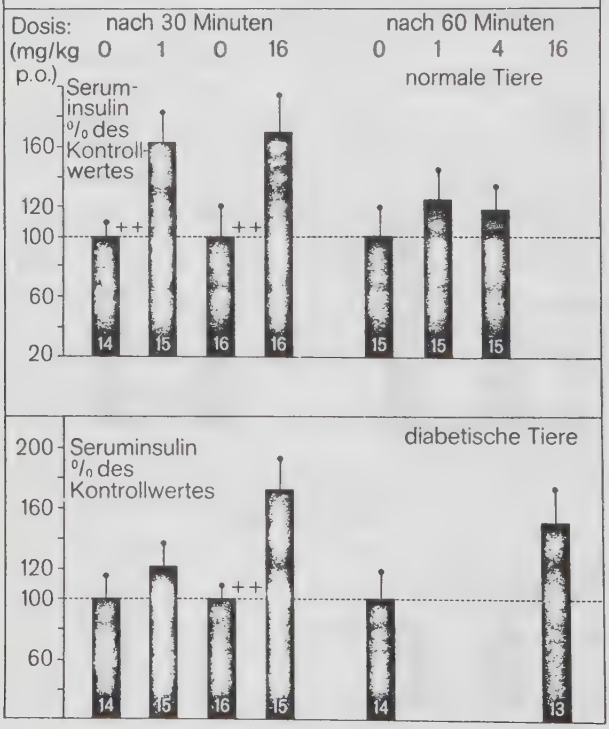


Abb. 36

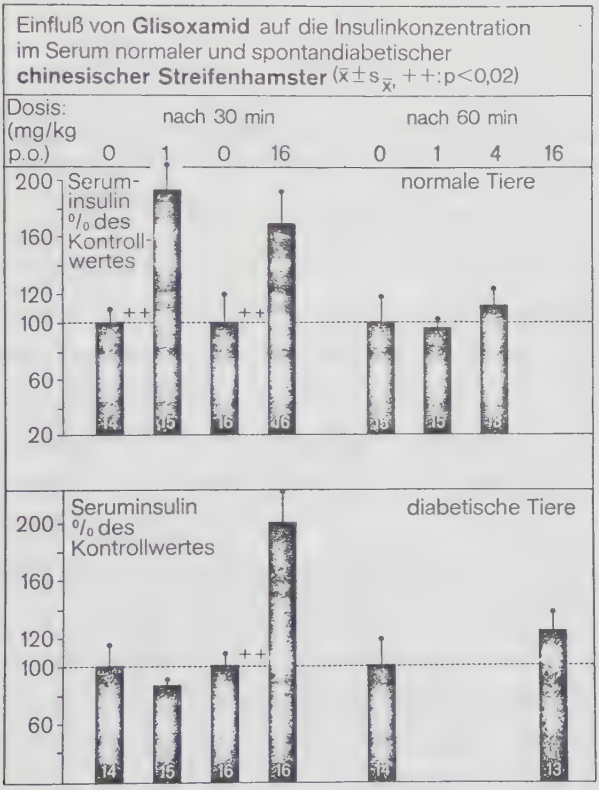

Einfluß von Glisoxamid auf die Insulinkonzentration im Serum normaler und spontandiabetischer chinesischer Streifenhamster ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, ++: p<0,02)
Dosis: (mg/kg p.o.)
nach 30 min
nach 60 min
0
1
0
16
0
1
4
16
Serum-insulin % des Kontroll-wertes
normale Tiere
200
160
120
100
60
20
++
++
14
15
16
16
15
15
18
Seruminsulin % des Kontrollwertes
diabetische Tiere
200
160
120
100
60
++
14
15
16
16
14
13

Abb. 37

Glucosekonzentration im Blut und Insulinkonzentration im Serum normaler und diabetischer chinesischer Streifenhamster 60 Min. nach oraler Gabe von Glymidin-Na, Glydanil-Na und Glisoxamid. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichungen der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$). Die statistische Beurteilung erfolgte nach dem U-Test: - = $p > 0{,}05$; + = $p < 0{,}05$; ++ = $p < 0{,}02$. (n = 15 Tiere / Gruppe).

			Gesunde Tiere		Diabetische Tiere	
Substanz	Dosis (mg/kg)	Signifikant gegen :	Glucose (mg %)	Insulin (µE/ml)	Glucose (mg %)	Insulin (µE/ml)
Kontrollen			104,5 ± 3,6	40,6 ± 8,0	149,7 ± 12,3	27,2 ± 5,2
Glymidin-Na	62,5		69,2 ± 6,1	41,9 ± 6,4	—	—
		Kontrollen	++	—		
	250,0		62,4 ± 4,2	47,6 ± 5,5	135,9 ± 14,9	28,6 ± 5,0
		Kontrollen	++	—	—	—
		62,5 mg/kg	—	—		
Glydanil-Na	1,0		79,6 ± 5,5	51,0 ± 7,4	—	—
		Kontrollen	++	—		
	4,0		57,2 ± 4,2	48,4 ± 6,2	—	—
		Kontrollen	++	—		
		1,0 mg/kg	++	—		
	16,0		—	—	94,3 ± 9,7	40,9 ± 5,9
		Kontrollen			++	—
Glisoxamid	1,0		57,2 ± 2,2	38,9 ± 3,4	—	—
		Kontrollen	++	—		
	4,0		54,3 ± 3,3	45,9 ± 5,4	—	—
		Kontrollen	++	—		
		1,0 mg/kg	—	—		
	16,0		—	—	138,5 ± 21,5	33,6 ± 4,3
		Kontrollen				

.3 Untersuchungen zum Mechanismus der insulinfreisetzenden Wirkung von GLYMIDIN- NATRIUM, GLYDANIL-NATRIUM und GLISOXAMID.

Anschliessend wurden einige Versuche zur Wirkungsweise der drei ß - cytotropen Substanzen durchgeführt. Hierfür wurden Dosen verwendet, mit denen bei Ratten eine sichere maximale Stimulation der Insulinsekretion möglich war.

.1 Zur Prüfung der Frage, ob ß - cytotrope Substanzen ähnlich wie Glucagon und ß - Rezeptoren stimulierende Katecholamine die Insulinsekretion über eine Aktivierung des Adenylcyclase-systems stimulieren, wurde zunächst der Einfluß von Theophyllin, einem Hemmstoff der 3',5' - AMP Phosphodiesterase, auf den insulinfreisetzenden Effekt von Glymidin-Natrium, Glydanil-Natrium und Glisoxamid untersucht.
Theophyllin selbst verursachte durch Anhäufung des unter dem Einfluß endogener Cyclaseaktivatoren gebildeten cyclischen AMP einen Anstieg des Seruminsulins. Injizierte man Theophyllin zusammen mit einem der drei Sulfonamide, so addierten sich in zwei Fällen (Glymidin-Natrium und Glisoxamid) die Einzel-effekte, lediglich bei Gabe von Glydanil-Natrium war ein geringer überadditiver Effekt festzustellen (Abb. 38).

Einfluß von **Theophyllin**[1] auf die durch Glymidin-natrium[2], Glydanil-natrium[3] und Glisoxamid[3] stimulierte Insulininkretion bei Ratten. ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, +p<0,05; −:p>0,05; ++:p<0,02)

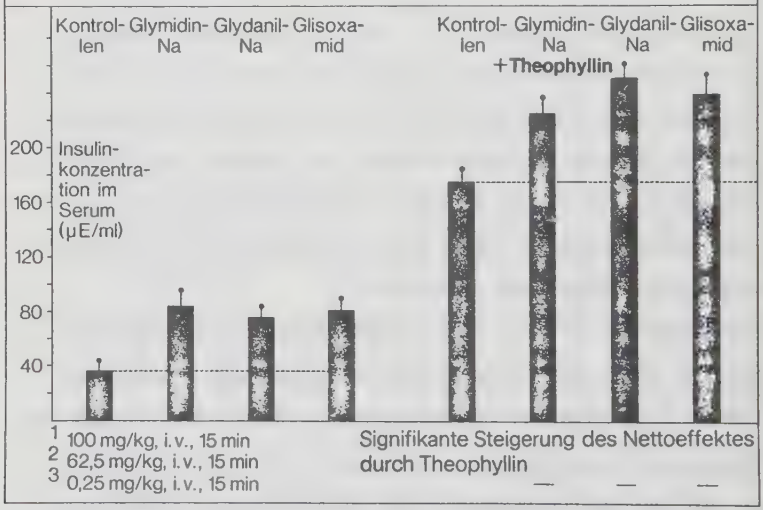


Abb. 38

3.3.2 In weiteren Versuchen, die zur Klärung einer möglichen Beteiligung von 3', 5' - AMP am Zustandekommen der Wirkung dieser Pharmaka dienen sollten, wurden Experimente durchgeführt, in denen der Einfluß eines ß - Rezeptorenblockers auf die insulinfreisetzende Wirkung von Glimidin-Natrium, Glydanil-Natrium und Glisoxamid geprüft wurde. Ausgangspunkt dieser Versuche war eine Beobachtung von BRESSLER, GORDON und BRENDEL (1969) , nach der der Effekt von Tolbutamid durch eine derartige Substanz abgeschwächt wurde. Für die vorliegenden Untersuchungen wurde Methylphenoxyisopropylaminopropanol (Kö 592) verwendet. Die Ergebnisse sind auf der Abb.39 dargestellt. Sie zeigen, daß der Nettoanstieg der Insulinkonzentration nach Vorbehandlung mit dem ß - Rezeptorenblocker nicht geringer war als bei Tieren, die diese Substanz nicht erhalten hatten.

3.3.3 Zur weiteren Charakterisierung der Wirkungsweise von Glymidin-Natrium, Glydanil-Natrium und Glisoxamid wurde geprüft, ob die drei Verbindungen in gleicher Weise wie Tolbutamid (LOUBATIERES, MARIANI, ALRIC, CHAPAL und PORTAL, 1967) die durch Diazoxid bedingte Hemmung der glucoseabhängigen Insulininkretion aufheben. Die Ergebnisse dieser Experimente sind auf der Abb. 40 dargestellt. Während durch Diazoxid die durch Glucose stimulierbare Insulinsekretion völlig aufgehoben wurde, kam es nach Injektion der drei Sulfonamide bei Tieren, die mit dem Thiazidderivat vorbehandelt waren,

Einfluß eines β-**Receptorenblockers**[1] auf die durch **Glymidin-natrium**[2], **Glydanil-natrium**[3] und **Glisoxamid**[3] gesteigerte Insulininkretion bei **Ratten.** ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, −: p>0,05, +: p<0,05)

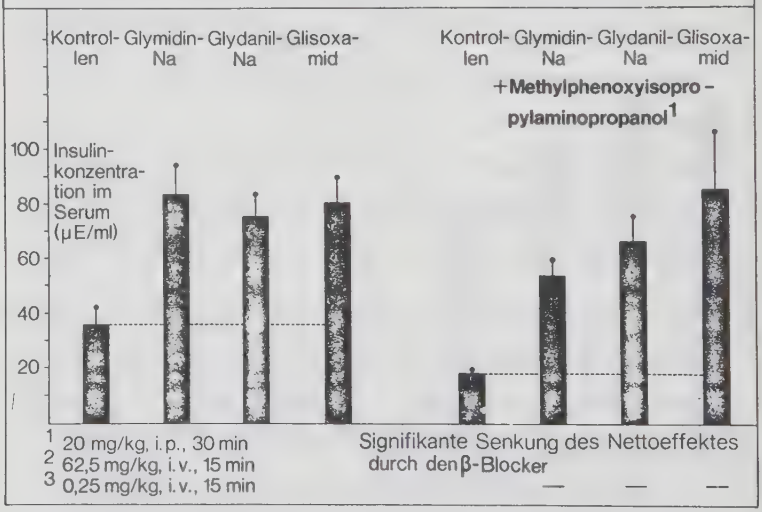


Abb. 39

zu einem erheblichen Anstieg des Seruminsulins. Dieser übertraf sogar die Wirkung der drei Pharmaka bei unvorbehandelten Tieren. Hierbei handelte es sich jedoch nicht um eine echte Wirkungssteigerung. Dieser Effekt beruhte vielmehr darauf, dass sich unter dem Einfluß von Diazoxid infolge der Insulinabgabehemmung sowie einer direkten Steigerung der Glycogenolyse in der Leber und Skeletmuskulatur (SCHULTZ, SENFT, LOSERT und SITT, 1966) eine erhebliche Hyperglykämie mit Blutzuckerkonzentrationen zwischen 250 und 300 mg% entwickelt hatte, die nach Aufhebung der Sekretionsbehinderung durch die Sulfonamide mit einer entsprechend starken Insulinfreisetzung beantwortet wurde. Hierfür spricht, daß bei adrenalektonierten Ratten nach 24 stündigem Futterentzug der insulinfreisetzende Effekt von Glymidin-Natrium durch Diazoxid nicht mehr verstärkt wurde (Abb.41). Unter diesen Bedingungen hatte Diazoxid infolge einer Glycogenverarmung der Tiere keine nennenswerte Hyperglykämie mehr zur Folge.

3.4 Schließlich wurde noch untersucht, ob sich die drei Sulfonamide auch in Bezug auf ihre Beeinflussung der glucoseabhängigen Insulinabgabe ähnlich verhalten wie Tolbutamid. Bei Untersuchungen am isoliert perfundierten Pankreas der Ratte beobachteten LOUBATIERES, MARIANI und CHAPAL (1969), daß Tolbutamid die Insulinsekretion nur bei Anwesenheit niedriger Glucosekonzentrationen stimuliert, nach Zusatz von sehr hohen

Einfluß von Diazoxid[1] auf die durch Glucose[2], Glymidin-natrium[3], Glydanil-natrium[4] oder Glisoxamid[4] stimulierte Insulininkretion bei Ratten. ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$; −: $p > 0{,}05$, +: $p < 0{,}05$, ++: $p < 0{,}02$)

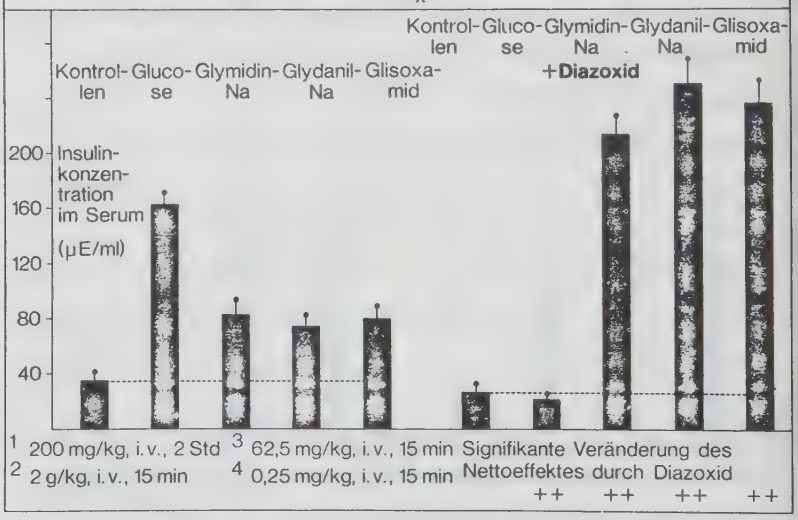
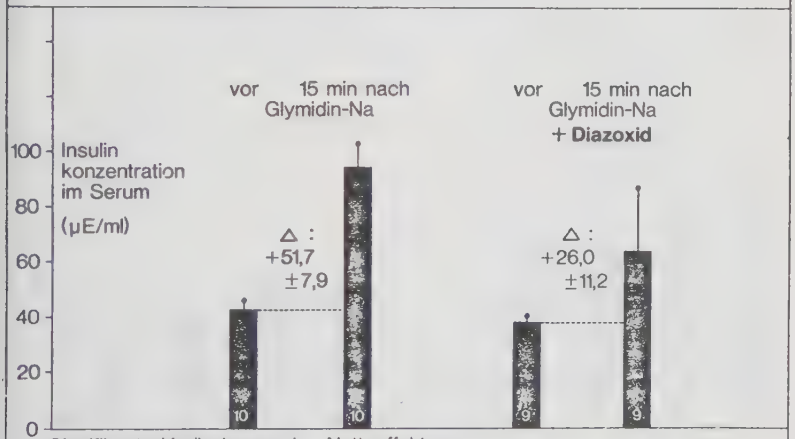


Abb. 40

Einfluß von **Diazoxid**[1] auf die durch **Glymidin-natrium**[2] stimulierte Insulininkretion bei nüchternen **adrenalektomierten Ratten.**



Signifikante Veränderung des Nettoeffektes von Glymidin-Na durch Diazoxid: —

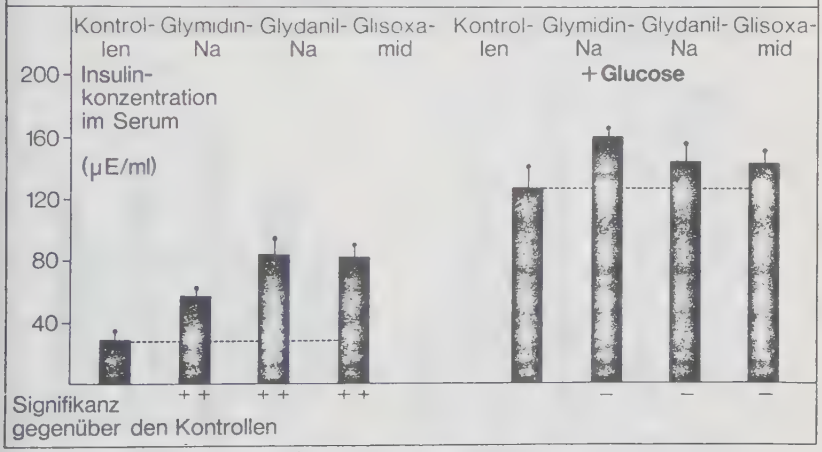
[1] 200 mg/kg, i. v., 120 min [2] 62,5 mg/kg, i. v., 15 min

Abb. 41

Glucosekonzentrationen (300 mg%) aber zu keiner zusätzlichen Insulinausschüttung mehr führt. Bei den vorliegenden Experimenten wurde diese Frage durch Vergleich der insulinfreisetzenden Wirkung von Glymidin-Natium, Glydanil-Natrium und Glisoxamid bei normaler oder erhöhter Blutzuckerkonzentration in vivo geprüft. Die auf der Abb. 42 dargestellten Ergebnisse sprechen dafür, dass die drei ß - cytotropen Substanzen sich in dieser Hinsicht nicht von Tolbutamid unterscheiden. Bei normaler Glucosekonzentration stiegen die Insulinkonzentrationen im Serum des Pfortaderblutes nach intravenöser Injektion der Sulfonamide an. Wurde durch gleichzeitige Injektion von Glucose die Blutzuckerkonzentration über 300 mg% erhöht , so konnte die hierdurch bereits stark gesteigerte Insulininkretion durch die ß - cytotropen Sulfonamide nicht weiter stimuliert werden.
Zu einer zusätzlichen Insulinausschüttung kam es unter diesen Bedingungen auch dann nicht, wenn die Dosen der drei Pharmaka um das 4 fache (Glymidin-Natrium) oder sogar 64 fache (Glydanil-Natrium und Glisoxamid) erhöht wurden (Abb. 43).

Auch eine Vorbehandlung mit geringen Dosen der Verbindungen, deren Eigeneffekt bei Injektion der Glucose bereits wieder abgeklungen war, konnte die durch Glucose maximal stimulierte Insulininkretion nicht mehr weiter steigern (Abb. 44).

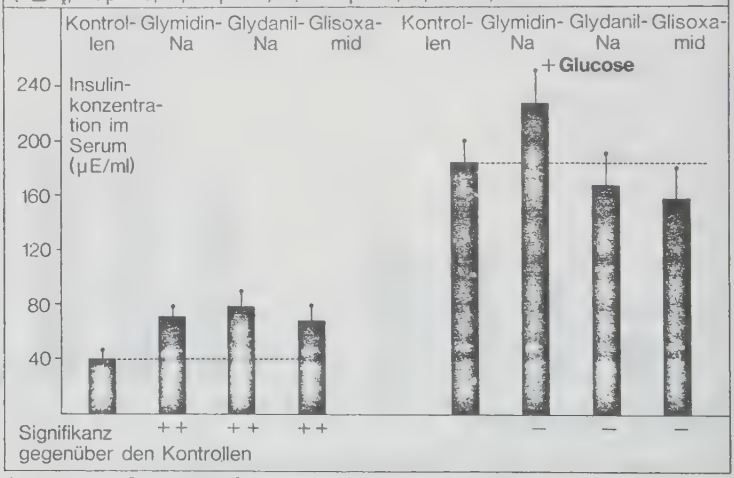
Einfluß mittlerer Dosen von Glymidin-Na[1], Glydanil-Na[2] und Glisoxamid[2] auf die Insulinkonzentration im Serum des Pfortaderblutes von Ratten bei normaler oder erhöhter Glucosekonzentration im Blut[3].
($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, −: $p > 0{,}05$, +: $p < 0{,}05$, ++: $p < 0{,}02$, $n = 10$)



([1]62,5 mg/kg*; [2]0,25 mg/kg*; [3]2 g/kg Glucose*) (*i.v., 15 min)

Abb. 42

Einfluß hoher Dosen von Glymidin-Na[1], Glydanil-Na[2] und Glisoxamid[2] auf die Insulinkonzentration im Serum des Pfortaderblutes von Ratten bei normaler oder erhöhter Glucosekonzentration im Blut[3].
($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, −: $p > 0{,}05$, +: $p < 0{,}05$, ++: $p < 0{,}02$, $n = 14$)

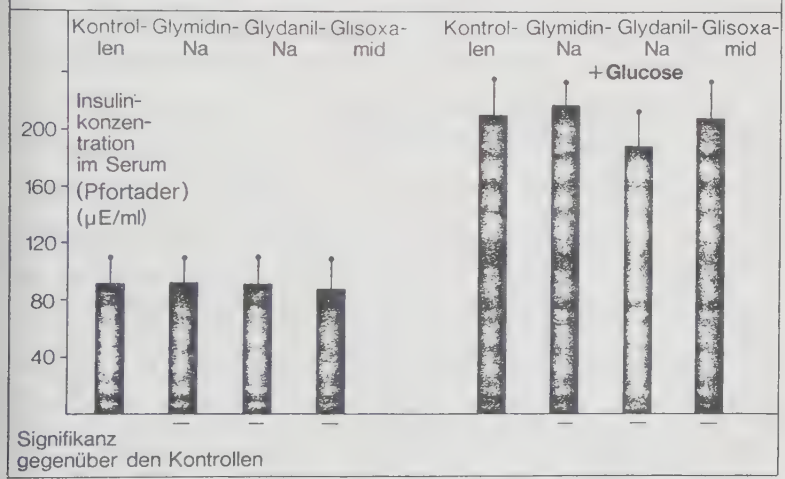


([1]250 mg/kg*; [2]16 mg/kg*; [3]2 g/kg Glucose*) (*i.v., 15 min)

Abb. 43

Einfluß einer Vorbehandlung mit geringen Dosen von Glymidin-Na[1], Glydanil-Na[2] und Glisoxamid[3] auf die durch Glucose[4] stimulierbare Insulininkretion bei Ratten.

($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, —: $p > 0{,}05$, +: $p < 0{,}05$, ++: $p < 0{,}02$ $n = 10$)



([1]3,9 mg/kg*; [2]0,0625 mg/kg*; [3]0,016 mg/kg*; [4]2 g/kg, i.v., 15 min) (*i.v., 60 min)

Abb. 44

4. D I S K U S S I O N

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass sich die beiden ß - cytotropen Substanzen Glydanil-Natrium und Glisoxamid nicht prinzipiell von den bisher bekannten Sulfonylharnstoffen und Sulfonylpyrimidinen unterscheiden. Weder Glydanil-Natrium noch Glisoxamid waren bei den untersuchten Tierarten in der Lage, eine stärkere Blutzuckersenkung hervorzurufen, als die Referenzsubstanz Glymidin-Natrium.

Unterschiede zwischen den einzelnen Verbindungen bestehen jedoch hinsichtlich der Dauer ihrer Wirkung und der relativen Wirksamkeit. Während Auftreten und Dauer der Wirkung von Glydanil-Natrium bei allen untersuchten Spezies etwa dem zeitlichen Ablauf der nach Gabe von Glymidin-Natrium auftretenden Blutzuckersenkung entsprach, unterscheidet sich Glisoxamid in dieser Hinsicht von den beiden Sulfonylpyrimidinen. Der Effekt dieser Verbindung setzt früher ein und hält kürzere Zeit an. Dieses Phänomen war besonders deutlich bei Mäusen und Meerschweinchen, etwas geringer bei den übrigen untersuchten Spezies ausgeprägt. Diese Befunde weisen darauf hin, daß Glisoxamid zumindest im Tierexperiment als kurzwirksames Antidiabetikum angesprochen werden muß, während Glydanil-Natrium wie Glymidin-Natrium eine mittlere Wirkungsdauer besitzt. Worauf diese Wirkungsunterschiede sowie die Speziesdifferenzen beruhen, kann vorläufig noch nicht entschieden werden. Entscheidend für die Wirkung eines jeden Pharmakons ist die Konzentration am Wirkort. (BRODIE, 1968 s.dort weitere Literatur). Sie wird beeinflußt von der Resorptionsgeschwindigkeit (bei oraler Gabe), von der Verteilung zwischen dem extra- und intrazellulärem Raum, von der Eiweißbindung, vom Stoffwechsel

(Bildung unwirksamer oder wirksamer Metaboliten) und der Ausscheidung. Bisher existieren noch nicht genügend Daten über das Schicksal der beiden neuen Verbindungen im Organismus, um daraus Erklärungen über die unterschiedliche Wirkungsdauer ableiten zu können.

Die relative Wirksamkeit der beiden neuen Verbindungen ist erheblich stärker als die der Vergleichssubstanz Glymidin-Natrium. In dieser Hinsicht bestehen ebenfalls Speziesunterschiede. Bei allen untersuchten Tierarten waren die zur Erzielung einer Hypoglykämie notwendigen Dosen von Glydanil-Natrium mindestens 50 mal geringer als eine gleich wirksame Dosis von Glymidin-Natrium. Bei Hunden und Ratten war das Verhältnis der äquieffektiven Dosen sogar noch größer. Sieht man von den bei Meerschweinchen erhobenen Befunden ab, so war Glisoxamid entweder gleich wirksam wie Glydanil-Natrium oder etwa 2 bis 4 mal wirksamer. Schwankungen in der relativen Wirksamkeit zwischen verschiedenen Zeiten nach Gabe der Verbindungen können durch die unterschiedliche Wirkungsdauer der drei Verbindungen erklärt werden. Dies dürfte auch die Ursache dafür sein, daß bei Meerschweinchen im Gegensatz zu den übrigen Tierarten Glisoxamid nach 90 Minuten viermal, nach 180 Minuten sogar siebenmal geringer wirksam war als Glydanil-Natrium. Bei dieser Tierart liegt offenbar der Zeitpunkt der maximalen Wirkung innerhalb der ersten Stunde nach Injektion von Glisoxamid.

Die Ursache der blutzuckersenkenden Wirkung der beiden neuen Verbindungen beruht mit großer Wahrscheinlichkeit auf einer Stimulierung derInsulininkretion. In dieser Hinsicht bestehen offensichtlich kein

Unterschiede gegenüber Glymidin-Natrium. Hierfür spricht, daß die Insulinkonzentration im Serum des peripheren- und Pfortaderblutes bzw. Pankreasvenenblutes nach Gabe der Verbindungen ansteigt, wobei das Maximum dieses Effektes dem Maximum der Blutzuckersenkung vorausgeht. Daß bei Tieren mit eingeschränkter oder ausgeschalteter Funktion der ß - Zellen die Glucosekonzentration im Blut auch nach Gabe sehr hoher Dosen der drei Verbindungen nicht oder nur erheblich schwächer abnimmt, spricht gegen wesentliche extrapankreatische Effekte dieser Verbindungen oder läßt zumindest ihre Bedeutung für das Zustandekommen der Blutzuckersenkung fraglich erscheinen.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen LOUBATIERES und Mitarb. beim Studium der blutzuckersenkenden Wirkung von Glybenclamid (LOUBATIERES, MARIANI, RIBES, MALBOSC und CHAPAL, 1969). Diese Autoren beobachteten, daß die blutsenkende Wirkung einer nicht maximal wirksamen Dosis von Insulin durch Zugabe des Antidiabetikums bei pankreatektomierten Hunden verstärkt wurde. Ob dieser Effekt statistisch signifikant ist, geht aus der Arbeit nicht hervor, da auf der entsprechenden Abbildung keine Streuungen verzeichnet sind. Die Ergebnisse basieren auf Untersuchungen an 4 Hunden. Es könnte sich allerdings hierbei um einen spezifischen Effekt von Glybenclamid handeln, der diese Verbindung von anderen ß - cytotropen Substanzen unterscheidet. Auf Grund der hohen und lange anhaltenden Senkung der Blutglucose, die am Menschen nach Gabe von Glybenclamid beobachtet wurde, ist auch von anderer Seite die Vermutung geäußert worden, daß die blutzuckersenkende Wirkung dieser Verbindung z.T. auf extrapankreatischen Effekten (PULS und FRERICHS, 1970) beruht.

Eine Hemmung des Insulinabbaus in der Leber, wie sie von MIRSKY, PERISUTTI und DIENGOTT (1956) in vitro unter dem Einfluß von Sulfonylharnstoffen beobachtet wurde, scheidet als zusätzliche Ursache des blutzuckersenkenden Effektes der drei Pharmaka aus, da die prozentualen Insulin-Konzentrationsunterschiede zwischen prae- und posthepatischen Blut durch eine Behandlung mit den Substanzen nicht beeinflußt wurden.

Zu ähnlichen Ergebnissen führten die Untersuchungen von BERSON, YALOW WEISENFELD, GOLDNER und VOLK (1957), RECANT und FISCHER (1957), WICK, BRITTON und GRABOWSKI (1956), die in vivo ebenfalls keine Beeinflußung des Insulinstoffwechsels durch Sulfonylharnstoffe hervorrufen konnten. Glymidin-Natrium, Glydanil-Natrium und Glisoxamid unterscheiden sich demnach auch in dieser Hinsicht nicht von anderen ß - cytotropen Sulfonamiden.

Ob die Blutzuckersenkung als Folge des vermehrt freigesetzten Insulin in erster Linie auf einer Steigerung der Glucoseaufnahme und Verwertung in der Skelettmuskulatur und im Fettgewebe oder auf einer Hemmung der hepatischen Glucoseabgabe beruht, kann auf Grund der vorliegenden Resultate nicht entschieden werden. Daß eine Einschränkung der Glucoseabgabe aus der Leber auf jeden Fall eine bedeutende Rolle spielt, geht aus Versuchen nach oraler Gabe der drei Sulfonamide an Kaninchen und Hunden hervor. Hierbei wurden z.T. Blutzuckersenkungen gemessen, ohne daß eine Erhöhung der Insulinkonzentration im peripheren Venenblut nachweisbar war. Eine Steigerung der peripheren Glucoseaufnahme erschien als Erklärung dieses Effektes daher unwahrscheinlich. Zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns hatten die Tiere

24 Stunden gefastet. Es wurde bereits darauf hingewiesen, daß zur Aufrechterhaltung einer ausreichenden Glucosekonzentration im Blut bei Nahrungsentzug die Glucoseneubildung aus Fett - und Aminosäuren und damit auch die Glucoseabgabe aus der Leber ansteigt. Bei einer Hemmung dieses Kompensationsmechanismus, z.B. durch Insulin (SÖLING, 1969, s. dort weitere Literatur) muss daher die Blutzuckerkonzentration abnehmen. Da die Insulinkonzentration im Pfortaderblut erheblich höher ist als im peripheren Blut, kann man annehmen, daß bei fastenden Tieren eine geringgradige, in der Peripherie nicht nachweisbare Steigerung der Insulinsekretion über eine Hemmung der hepatischen Glucoseabgabe zu einer erheblichen Hypoglykämie führt. Ausserdem muß auch hierbei berücksichtigt werden, daß die Insulinkonzentration im Pfortaderblut infolge des Insulinabbaus in der Leber höher ist als in der Peripherie.

Auf welche Weise die Insulinsekretion stimuliert wird, bleibt weiterhin offen. Eine Beteiligung von 3', 5'- AMP am Zustandekommen dieses Effektes ist auf Grund der vorliegenden Ergebnisse sehr unwahrscheinlich. Gegen eine Aktivierung der Adenyl-Cyclase spricht vor allem, daß die Wirkung der drei Substanzen nicht durch den 3', 5'- AMP - Phosphodiesterasehemmstoff Theophyllin potenziert wird. Unter vergleichbaren Bedingungen durchgeführte Experimente mit Glucagon haben gezeigt, daß der insulinfreisetzende Effekt dieses Hormons durch zusätzliche Gabe von Theophyllin erheblich zunimmt (LOSERT, ROSENTHAL, JAHN und SITT, 1970). Diese Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit Befunden, die von MALAISSE und MALAISSE-LAGAE (1969) veröffentlicht

wurden. Danach hebt Imidazol, ein Aktivator der 3',5' - AMP-Phosphodiesterase, zwar die durch Glucagon gesteigerte Insulinsekretion auf, nicht aber den Effekt von Tolbutamid.
Die fehlende Einschränkung des insulinfreisetzenden Effektes der drei untersuchten Sulfonamide durch einen ß - Rezeptorenblocker, die im Gegensatz zu den Befunden von BRESSLER und Mitarbeitern (1969) steht, spricht ebenfalls nicht für eine Stimulierung der Adenyl-Cyclase durch diese Verbindungen. Dieser Befund hat allerdings nur eine beschränkte Aussagekraft. Eine Abschwächung wäre nämlich nur dann zu erwarten, wenn Sulfonamide die Adenyl-Cyclase über ß-Rezeptoren aktivierten. Diese Verbindungen könnten das Ferment jedoch auch über einen anderen Rezeptor stimulieren wie z.B. Glucagon und andere Hormone, die die Insulinabgabe durch eine vermehrte Bildung von 3',5' - AMP anregen (MALAISSE, MALAISSE-LAGAE und MAYHEW, 1967). Der Effekt von Glucagon wird ebenfalls nicht durch ß - Rezeptorenblocke abgeschwächt (LOSERT, ROSENTHAL, JAHN und SITT, 1970).
Eine weitere Differenzierung zwischen ß - cytotropen Substanzen, Sulfonamiden und Substanzen, für deren insulinfreisetzende Wirkung die Beteiligung von 3',5' - AMP nachgewiesen wurde, zeigt sich bei der Beeinflussung der glucosestimulierbaren Insulininkretion. In vitro Untersuchungen, die von verschiedenen Arbeitsgruppen an Pankreasschnitten und isolierten Inseln durchgeführt wurden, haben ergeben, daß sowohl die Wirkung von Sulfonylharnstoffen als auch Glucagon und Theophyllin an die Anwesenheit von Glucose im Inkubationsmedium oder zumindest an das Vorhandensein von Glycogen in den ß - Zellen gebunden ist. (LÖFFLER, TRAUTSCHOLD, SCHWEITZER und

LOHMANN, 1969 ; MALAISSE, MALAISSE-LAGAE und MAYHEW, 1967 ; MAYHEW, MALAISSE, MALAISSE-LAGAE und WRIGHT, 1967) . Da andererseits bekannt ist, daß Glucose offenbar nicht direkt die Insulinabgabe stimuliert, sondern zu einem bisher noch nicht bekanntem Metaboliten abgebaut werden muß (MALAISSE, MALAISSE-LAGAE und MAYHEW, 1967) , kann man annehmen, daß beide Substanzklassen die Empfindlichkeit des eigentlichen Rezeptors für diesen Metaboliten herabsetzen. Durch die vorliegenden Untersuchungen sollte die Frage beantwortet werden, ob ß - cytotrope Sulfonamide auch dann noch zu einer Insulinfreisetzung führen, wenn das Substrat, an dessen weiteren Schicksal in den ß - Zellen sie in irgendeiner Weise beteiligt sind, selbst in sehr hoher Konzentration vorliegt. Glucagon, Theophyllin und Isopropylnoradrenalin führen unter diesen Bedingungen sowohl in vivo (LOSERT, ROSENTHAL, JAHN und SITT, 1970) als auch in vitro (MALAISSE und LALAISSE-LAGAE, 1968) zu einer weiteren Steigerung der Insulinsekretion.

Daß ß - cytotrope Sulfonamide die Insulinfreisetzung bei hoher Glucosekonzentration nicht mehr zusätzlich stimulieren, spricht für einen grundsätzlich anderen Angriffspunkt dieser Substanzen. In Übereinstimmung mit kürzlich von LOUBATIERES, MARIANI und CHAPAL (1969) veröffentlichten Beobachtung weisen die vorliegenden Befunde darauf hin, daß Sufonylharnstoffe und Sulfonylpyrimidine lediglich zu einer Linksverschiebung der Dosiswirkungskurve zwischen Reiz (Glucose) und der Antwort (Insulinabgabe) führen, den Maximaleffekt des Zuckers jedoch nicht steigern können.

Auf einen unterschiedlichen Angriffspunkt von Sulfonylharnstoffen

einerseits und Cyclaseaktivatoren andererseits weisen schließlich auch Experimente hin, in denen der Einfluß von Diazoxid auf die insulinfreisetzende Wirkung der drei Sulfonylharnstoffe studiert wurde. Glymidin-Natrium, Glydanil-Natrium und Glisoxamid heben in gleicher Weise wie die bisher untersuchten Sulfonylharnstoffe die durch Diazoxid bedingte Hemmung der Insulinsekretion auf und unterscheiden sich damit deutlich von Theophyllin, Glucagon und Isoproterenol (LOSERT, ROSENTHAL, JAHN und SITT, 1970 ; LÖFFLER, TRAUTSCHOLD, SCHWEITZER und LOHMANN, 1969).

Untersuchungen von LOUBATIERES, MARIANI, ALRIC, CHAPAL und PORTAL (1967) am isoliert perfundierten Pankreas der Ratte lassen die Möglichkeit offen, daß Diazoxid und Sulfonamide eventuell am gleichen Rezeptor angreifen. Da der insulinfreisetzende Effekt von Substanzen, die über cyclisches AMP wirken in gleicher Weise wie die Glucose selbst durch Diazoxid gehemmt wird, kann man annehmen, daß das cyclische Nucleotid die Reaktionskette zwischen dem Eintritt der Glucose in die ß - Zellen und der Freisetzung des Hormons an einer Stelle beeinflußt, die vor dem Angriffspunkt der Sulfonylharnstoffe und Sulfonylpyrimidine liegt.

5. ZUSAMMENFASSUNG

An Ratten, Mäusen, Hunden, chinesischen Streifenhamstern, Meerschweinchen und Kaninchen wurde die blutzuckersenkende Wirkung zweier neuer oraler Antidiabetika, Glydanil-Natrium und Glisoxamid, im Vergleich zu Glymidin-Natrium untersucht. Ausserdem wurden Experimente zur Wirkungsweise und zum Wirkungsmechanismus durchgeführt.

1. Die beiden neuen Verbindungen erniedrigen bei allen untersuchten Tierarten die Glucosekonzentration im Blut in erheblich niedrigeren Dosen als Glymidin-Natrium. Der Maximaleffekt dieser Verbindung wurde dagegen nicht übertroffen. Die relativen Wirksamkeiten waren zwar bei den einzelnen Tierarten verschieden, die zur Erzielung einer Hypoglykämie notwendigen Dosen von Glydanil-Natrium waren jedoch bei allen untersuchten Tierarten mindestens 50 mal geringer als gleichwirksame Dosen von Glymidin-Natrium. Glisoxamid hatte gegenüber Glydanil-Natrium eine gleiche oder 2 bis 4 fache relative Wirksamkeit.
   Die Dauer der Blutzuckersenkung war bei Glymidin-Natrium und Glydanil-Natrium gleich, der Effekt von Glisoxamid hielt im allgemeinen kürzer an.

2. Die hypoglykämische Wirkung von Glydanil-Natrium und Glisoxamid beruht in gleicher Weise wie der Effekt von

Glymidin-Natrium auf einer Stimulierung der Insulinsekretion. Hierfür spricht, daß unter dem Einfluß der Verbindungen z.T. dosisabhängig die Insulinkonzentration im Serum des peripheren Blutes, Pankreasvenen- oder Pfortaderblutes bei den untersuchten Tieren anstieg.

3. Eine zusätzliche [illegible] des Insulinabbaus liegt nicht vor, da die Differenzen zwischen der Insulinkonzentration im Pfortaderblut [illegible] peripheren Blut unter dem Einfluß hoher Dosen der drei [illegible] verändert wird.

4. Eine zusätzliche [illegible] Beeinflussung des Kohlenhydratstoffwechsels durch die Sulfonamide spielt höchstwahrscheinlich [illegible] eine Rolle. Bei spontandiabetischen Streifenhamstern, streptozotozindiabetischen Ratten und pankreatektomierten Hunden, das heißt nach partieller oder vollständiger Ausschaltung der ß - Zellen, wird die Glucosekonzentration nur noch geringfügig oder gar nicht erniedrigt.

5. Die insulinfreisetzende Wirkung der drei Sulfonamide wird nicht durch cyclisches 3',5' - AMP als "second messanger" vermittelt. Die Steigerung der Insulinsekretion nach Gabe der drei Verbindungen wird im Gegensatz zur gleichartigen Wirkung von Substanzen, für die eine Stimulierung des Adenylcyclase- 3',5' - AMP-Systems nachgewiesen wurde, weder durch einen 3',5'-AMP-Phosphodiesterasehemmstoff (Theophyllin) potenziert, noch durch Diazoxid aufgehoben.

Die bereits durch maximal wirksame Glucosekonzentrationen stimulierte Insulininkretion wird durch Glymidin-Natrium, Glydanil-Natrium und Glisoxamid nicht mehr zusätzlich gesteigert. Unter den gleichen Bedingungen führt eine Erhöhung der 3',5'-AMP-Konzentration zu einer weiteren Steigerung der Insulinabgabe.

L i t e r a t u r .

1. Aguilar-Parada, E., A.M. Eisentraut, R.H. Unger
Effect of HB 419 induced hypoglycemia on pancreatic glucagon secretion.
in: HB 419 - A new oral antidiabetic drug, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1969) Editors: R. Levine, E.F. Pfeiffer.

2. La Barre, J., J. Reuse
A propos de l'action hypoglycémiante de certains dérivés sulfamidés.
Arch. néerl. Physiol. 28, 475 (1947)

3. Bänder, A., J. Scholz
Spezielle pharmakologische Untersuchungen mit D 860
Dtsch. med. Wschr. 81, 889 (1956)

4. Bänder, A.
Experimental investigations with sulfonylureas.
Proc. Intern.Pharmacol. Meeting 1 (1962)

5. Bänder, A., W.Pfaff, F.H. Schmidt, H. Stork, H.G. Schröder
Zur Pharmakologie von HB 419, einem neuen hochwirksamen oralen Antidiabetikum.
Arzneimittelforschung 19, 1363 (1969)

6. Bänder, A., W. Pfaff, K.Ritter, A. Wohlfahrt, F.H. Schmidt
Zur Pharmakologie von HB 419 in: HB 419 - Tegernsee-Konferenz über das neue orale Antidiabetikum HB 419.
Farbwerke Hoechst A.G., Boehringer Mannheim G.m.b.H. (1969)

7. Bauer, G., W. Kloppe, P.U. Schubert
Wirkung und Verträglichkeit von HB 419 bei ambulant behandelten Diabetikern.
Arzneimittelforschung 19 , 1434 (1969)

8. Berson, S.A., R.S. Yalow, S. Weisenfeld, M.G. Goldner, B.M. Volk
The effect of sulfonylureas on the rates of metabolic degradation of insulin - J ^{131} and glucagon-J ^{131} in vivo and in vitro.
Diabetes 6 , 54 (1957)

9. Berthet, J., E.W. Sutherland, M.H. Makman
Observation on the action of certain sulfonylurea derivates
Metabolism 5, 768 (1956)

10. Betzien, G.
Klinisch-pharmakologische Untersuchungen über die blutzuckersenkende Wirkung von HB 419 an gesunden Menschen.
Arzneimittelforschung 19 , 1421 (1969)

11. Bolinger, P.E., H.J. Grady
Effect of aryl-sulfonylurea on the plasma dissapearance of labelled insulin in diabetics.
Am.J.Med.Sci. 233 , 182 (1957)

12. Bouman, P.R., J.H. Gaarenstroom
Stimulation by carbutamide and tolbutamide of insulin release from rat pancreas in vitro.
Metab. Chin. Expl. 10, 1095 (1961)

13. Brech, W.J., H. Kaess, G. Schlierf, M. Rohs.
Der Einfluss von Diazoxid auf die glucagoninduzierte Insulinsekretion.
Klin. Wschr. 8, 449 (1968)

14. Bressler, R., M.V. Cordon, K. Brendle
Studies in the role of adenylcyclase in insulin secretion.
Arch.Intern. Med. 123, 247 (1969)

15. Brodie, B.
The mechanisms of adverse reaction
in: Proceeding of the third international pharmacological meeting. July 24 - 30, (1968) General Editor: M. Rocha, E. Silva Vol. 4 , 23

16. Brunetti, P. F. Santeusanio, D. Arena
Insulinstimulierende Eigenschaften von HB 419 bei Gesunden
(Vergleichende Untersuchungen mit Tolbutamid)
in: HB 419 - Tegernsee-Konferens über das neue orale Antidiabetikum HB 419 , S. 72
Farbwerke Hoechst A.G., Boehringer Mannheim G.m.b.H. (1969)

17. Butler, L.
The inheritance of diabetes in the chinese hamster.
Diabetologia 3, 124 - 129 (1967)

18. Campbell, J. K.S. Rastogi.
Effects of glucagon and epinephrine on serum insulin and insulin secretion in dogs.
Endocrinology 79, 830 (1966)

19. Carpenter, A.M., G.C. Gerritsen, W.E. Dulin, A. Lazarow.
Islet and ß-cell volumes in diabetic chinese hamsters and their non-diabetic siblings.
Diabetologia 3, 92 - 96 (1967)

20. Cavalli-Sforza, L.
Biometri, 2. Auflage, Grundzüge biologisch-medizinischer Statistik
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1969) Kap. 8 und 9

21. Chandalia, H.B., S.L. Hollobaugh, L.F.Pennigton, B.R. Boshell
Use of glibenclamide in maturity onset diabetes-effect of the drug on serum insulin levels.
in: HB 419 - A new oral antidiabetic drug. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1969) Editors: R.Levine, E.F. Pfeiffer.

22. Chen, K.K., R.C. Anderson, N. Maze.
Hypoglycemic action of sulfonylamidocyclopropylthiadiazole in rabbits and its reversal by alloxan.
Proc.Soc.exp.Biol. 63 , 483 (1956)

23. Cochran, W.G., G.M. Cox
Experimental designs, 2nd Edition, John Wiley and sons, Inc, New York, London, Sidney (1957).

24. Colwell , A.
Potentation of insulin action on the liver by tolbutamide.
Metabolism 13, 1310 - 1317 (1964)

25. Coore, H.G.
Stimulation der Insulinabgabe aus Kaninchenpankreas durch HB 419
in: HB 419- Tegernsee-Konferenz über das neue orale Antidiabetikum HB 419. S. 55
Farbwerke Hoechst A.G., Boehringer Mannheim G.m.b.H. (1969)

26. Coore, H.G., P.J. Randle
Regulation of insulin secretion studied with pieces of rabbit pancreas incubatet in vitro.
Biochem. J. 93, 66 (1964).

27. Creutzfeldt, W. Bötcher
Die Wirkung von D.860 auf den Alloxandiabetes des Kaninchens
Dtsch. med. Wschr. 81, 896 (1956)

28. Creutzfeldt, W. D. Söling.
Orale Diabetestherapie und ihre experimentellen Grundlagen.
Ergln.inn.Med.Kinderheilkunde 15, 1 (1960)

29. Creutzfeldt, W., H. Frerichs, E. Perings.
Seruminsulinwerte im hypoglykämischen Schock bei Suizidversuchen mit Tolbutamid und Insulin.
Dtsch. Med.Wschr. 17, 856 - 860 (1968)

30. De Devitiis, D.F., O.F. Giordano, B. Gallo, A. Jacono.
Tolbutamid and propanolol.
The Lancet, 6, 749 (1968/I)

31. Donald, D. Curry, L. Bennet, G. Grodsky
Dynamic of insulin secretion by the perfused rat pancreas.
Endocrinology 83, 572 - 584 (1968)

32. Dubach, L.
Verhalten von Blutzucker, freien Fettsäuren und Insulin nach HB 419 oral bei gesunden Probanden.
in: HB 419 - Tegernsee-Konferenz über das neue orale Antidiabetikum HB 419. S. 70
Farbwerke Hoechst A.G., Boehringer Mannheim G.m.b.H. (1969)

33. Ferguson, B.D.
in: Insulin membranes and metabolism, Editor: Peter Rieser
The Williams and Wilkins Company, Baltimore (1967)
Med.Clin. N. Am. 49, 129 (1965)

34. Franke, H., J. Fuchs.
Ein neues antidiabetisches Prinzip.
Dtsch. Med.Wschr. 80, 1449 (1955)

35. Frerichs, H., Gerber, G., W. Creutzfeldt.
Insulinsekretion in vitro II. Hemmung der glucoseinduzierten Insulinabgabe durch Diazoxid
Diabetologia 2, 269 - 276 (1966)

36. Fussgänger, R.D., R. Goberna, M. Hinz, P. Jaros, C. Karsten, E.F. Pfeiffer, S. Raptis.
Comparative studies on the dynamics of insulin secretion following HB 419 and tolbutamide of the perfused isolatet rat pancreas and the perfused isolatet pieces and islets of the rat pancreas.
in: HB 419- A. new oral antidiabetic drug , Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1969) Editors: R. Levine, E.F. Pfeiffer.

37. Genuth, S., H. Lebovitz
Stimulation of insulin realease by corticotropin.
Endocrinology 76, 1093 (1965)

38. Gerhards, E., K.H. Kolb
Über 2 - Benzolsulfamino-5- (ß- methoxy-äthoxy)- pyrimidin (Glycodiazin)
Z. physiol. Chem. 343, 162 (1965)

39. Gerhards, E., B. Nieuweboer, H. Gutsche
Über 2- Benzylsulfonylamino-5- (ß - methoxy-äthoxy) - pyrimidin (Glycodiazin) VI. Versuche zum Wirkungsmechanismus des oralen Antidiabetikums Glycodiazin bei gesunden Versuchspersonen.
Arzneimittelforschung 18, 570 (1968)

40. Goberna, R., R.D. Fussgänger, S. Raptis, E.F. Pfeiffer
Die Wirkung von HB 419 auf Blutzuckerregulation und reaktiven Insulinanstieg subtotal pankreatektomierter Ratten.
in: HB 419 - Tegernsee-Konferenz über das neue orale Antidiabetikum HB 419. S. 49
Farbwerke Hoechst A.G., Boehringer Mannheim G.m.b.H. (1969)

41. Grodsky, G., D.Curry, L. Bennet.
Die Wirkung von HB 419 auf die Insulinsekretion in vitro
in: HB 419 - Tegernsee-Konferenz über das neue orale Antidiabetikum HB 419 S.54.
Farbwerke Hoechst A.G., Boehringer Mannheim G.m.b.H. (1969)

42. Hadden, D.R., S.K. Bhatia, A. Rigas, J.A. Weaver, D.A.D.Montgomery.
Circardianvariation of glucose, insulin and free fatty acids during the longterm use of oral hypoglycemic agents in diabetes mellitus with special reference to HB 419.
in: HB 419 - A new oral antidiabetic drug, Georg Thieme Verlag Stuttgart (1969). Editors: R. Levine, E.F. Pfeiffer.

43. Halpern, B.N., F. Pacaud.
Technique de prélèvement d'échantillons de sang chèz les petits animaux de laboratoire par ponction de plexus ophthalmique.
C.R. Soc.Biol. (Paris) 145, 1465 (1951)

44. Hasselblatt, H.A., J. Schmieta.
Aktivierung von gebundenem Insulin durch Tolbutamid.
Klin.Wschr. 39, 911 (1961)

45. Hasselblatt, H.A.
Liberation of insulin bound to serum protein by tolbutamid.
Metabolism 12, 302 (1963)

46. Hebold, G., J. Scholz, E.Schütz, H.Czerwek, T. Sakaguchi, R.Brunk, H. Nothdurft, H. Kief, C.Baeder, F.Hartig.
Experimental investigations of the new sulfonylurea derivate glibenclamide.
in: HB 419 - A new oral antidiabetic drug, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1969) Editors: R.Levine, E.F. Pfeiffer.

47. Hellman, B., L.A.Idahl, H.Tjälve, A. Danielsson, A. Lernmark.
Beobachtungen zum Wirkungsmechanismus des hypoglykämisch wirksamen Sulfonylharnstoff-Präparates HB 419.
Arzneimittelforschung 19, 1472 (1969)

48. Hinz,M., V. Huber, C.Karsten, S. Raptis, E.F.Pfeiffer.
Der Einfluss wiederholter Gaben von HB 419 auf die Insulinsekretion isolierter Langerhans'scher Inseln der Ratte.
in: HB 419 - Tegernsee-Konferenz über das neue orale Antidiabetikum HB 419, S.51
Farbwerke Hoechst A.G., Boehringer Mannheim G.m.b.H., (1969)

49. Howell, S.L., P.E.Lacy.
Studies of the effect of HB 419 (Glibenclamide) on isolatet islets and granules.
in: HB 419 - A. new oral antidiabetic drug, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1969) Editors: R.Levine, E.F.Pfeiffer.

50. Huggett, A.St.G., D.A. Nixon.
Use of Glucoseoxidase, peroxidase, and o-dianisine in determination of blood and urinary glucose.
Lancet 1957/II, 368.

51. Jabon, M., J. Chapal, A. Vendel, J. Schaap.
Accedents hypoglycémiques graves par un sulfamido-thiodiazol (le V.K.57 ou 2254 R.P.). Com.Soc.Sci.méd. 441, (1942)

52. Junod A., A.E. Lambert, L. Orci, R. Picet, A.E. Gonet, A.E. Renold.
Studies of the diabetogenic action of streptozotocin.
Proc. Soc. exp.Biol. 126 , 201 (1967)

53. Kaneto, A., K. Kosaka, K. Nakao.
Effects of the neurohypophysial hormones on insulin secretion
Endocrinology 81, 783 (1967).

54. Kramer, M., G. Hecht, H.Langecker, A. Harwart, K.D.Richter, Ch. Gloxhuber.
Verträglichkeit von 2 - Benzolsulfamido- 5 - (ß - methoxy - äthoxy) pyrimidin (Glycodiacin) bei langdauernder Verabreichung im Tierversuch.
Arzneimittelforschung (Drug.Res.) 14, 377 (1964)

55. Kern, H.F., D.Kern, F.H. Schmidt, H. Stork.
The finestructure of the islets of Langerhans in rats and rabbits after treatment with glibenclamide (HB 419)
in: HB 419 - A new oral antidiabetic drug, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1969) S. 11.

55a Koller,S.
Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse.
In: Hoppe-Seyler/Thierfelder: Handbuch der physiologisch-und pathologisch-chemischen Analyse. Band 2/2, 10. Auflage, S.1011. Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1955.

56. Lacy, P.E., Young, Fink.
Studies on insulin secretion in vitro from isolatet islets of the rat pancreas.
Endocrinology 83, 1155 - 1161 (1968)

57. Lambert, A.E., B. Jeanrenaud, A.E. Renold.
Enhaucement by caffeine of glucagon induced and tolbutamid induced insulin release from isolatet foetal pancreatic tissue.
Lancet 1967/ I , 819

58. Lambert, A., D.Vecchio, A. Gonet, B. Jeanrenaud, A.E. Renold.
Organ culture of fetal rat pancreas: Effect of tolbutamide, glucagon and other substances.
in: Tolbutamide after 10 years. Edited by W.J.H. Butterfield and W. van Westerling. S. 61. Exc.Med. Found. No. 149 (1967)

59. Levine, R., R. Mahler.
Production, secretion, and availability of insulin
Ann. Rev. Med. 15, 413 (1964)

60. Löffler, G., I. Trautschold, T. Schweitzer, E. Lohmann.
Zur Wirkung von HB 419 und Tolbutamid an isolierten Langerhansschen Inseln der Ratten.
Arzneimittelforschung 19, 1467 - 1469 (1969)

61. Löffler, G., I. Trautschold, T. Schweitzer, E. Lohmann
Zur Wirkung von Glucagon, 3', 5' - cyclo - AMP und Sulfonylharnstoffen auf Insulinfreisetzung und Glucosestoffwechsel insolierter Langerhans'scher Inseln der Ratte.
Arnzeimittelforschung 19, 1469 (1969)

62. Loubatières, A.
Etude experimentale chez le chien des accidants nerveux irréversibles consécu_tifs àhypoglycémie prolongée provoquée par le sulfa-isopropyl- thiodiazol.
43 e Congrès des méd. alién. neurol. de France, Montpellier.p. 415 Edit.: Masson, Paris (1942)

63. Loubatières, A.
Relation de médicanisme de l'action hypoglycémiante du p-aminobenzène-sulfamido-isopropyl-thiodiazol (2254 R.P.)
Comp. Rend. Soc.Biol. 138 , 766 (1944)

64. Loubatières , A.
Physiologique et pharmacodynamique de certains dérivés sulfamidés hypoglycémintes. Thèse Doct. Sci. Naturelles de Montpellier No 86.
Craille et Castelnau, Montpellier (1946 a)

65. Loubatières, A.
Etude physiologique et pharmacodynamique de certains dérivés sulfamidés hypoglycémiants.
Arch.Int.Physiol. 54 , 174 (1946 b)

66. Loubatières, A.
Effects of prolonged administation of hypoglycemic sulfonamide (chlorpropamide) on the subtotally pancreatectomised dog.
Pergamon Press (1964).

67. Loubatières , A., M.M. Mariani, G.Ribes, H. deMalbosc.
Etude des effects antagonistes du diazoxide et du tolbutamide sur la glycémie et sur l'insulino-sécrétion du Chien.
Comp. Rend.Soc. Biol. 161, 1751 (1967).

68. Loubatières, A., R. Alric, J. Chapel, A. Portal
Antagonisme entre le diazoxide et le tolbutamide sur l' insulino-sécretion. Etude in vitro sur le pancréas isolé et perfusé du rat.
Comp. Rend. Soc. Biol. 161, 1755 (1967).

69. Loubatières, A., M.M. Mariani, J. Chapal, A. Portal
Action frénature de faibles doses d'adrénaline et de noradrénaline sur l' insulino-sécrétion etudée sur le pancréas isolé et perfusé du rat.
Comp. Rend. Soc. Biol. 161, 2578 (1967)

70. Loubatières, A., M.M. Mariani, J. Chapal
Etude de la synergie entre le glucose et le tolbutamide dans les limites physio-pathologiques de la glycemie.
C.R. Acad. Sc. Paris, 269, (1969), Série D, S. 1460.

71. Loubatières , A., M.M. Mariani, G. Ribes, H. de Malbosc, J.Chapal
Etude expérimentale d'un nouveau sulfamide hypoglycémiant particulièrement activ, le HB 419 ou glibenclamide.
I. Action bêtacytotrope et insulino-sécrétrice.
Diabetologia 5, 1 - 10 (1969)

72. Losert, W., G. Senft, R. Sitt, G. Schultz, H. Kaes
Die Beteiligung des Insulins an der Diazoxid-Hyperglykämie.
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp. Path.Pharmak. 253, 388 (1966)

73. Losert, W., O. Loge, K.D. Richter,
Untersuchungen zur Insulininkretion an normalen spontandiabetischen streptozotocindiabetischen und adrenalektomierten chinesischen Streifenhamstern.
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp. Path. Pharmak. : in Druck 1970
Diabetologia, 6, 79 (1970)

74. Losert W., K. Rosenthal, P. Jahn, G. Sitt
Vergleichende Untersuchungen über den Einfluss von Glymidin-Natrium, Glucagon und Isopropylnoradrenalin auf die Insulinsekretion bei Ratten.
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharmak. : in Druck 1970

75. Madsen, J.
Extrapancreatic and intrapancreatic action of antidiabetic sulfonylureas a review.
Acta med.scand., Suppl. 476, 109 (1967)

76. Martin, J.H., J.J. Gargliardino
Effect of growth hormon on the isolatet pancreatic islet of rat in vitro.
Nature (London) 213, 630 (1967)

77. Malaisse W., F.Malaisse-Lagae, E.F. McCraw.
Effect of thyroid function upon insulin secretion.
Diabetes 16 , 643 (1967)

78. Malaisse, W., F. Malaisse-Lagae, G.C. Gerritsen, W.E. Dulin, P.H. Wright.
Insulin secretion in vitro by the pancreas of the chinese hamster
Diabetologia 3, 109 - 114 (1967)

79. Malaisse, W., F. Malaisse-Lagae, P.H. Wright
Effect of fasting upon insulin secretion in the rat.
Amer.J. Physiol. 213, 843 (1967)

80. Malaisse, W., F. Malaisse-Lagae
Stimulation of insulin secretion by noncarbohydrate metabolites.
Journal Lab.Clin. Med. 72 , 438 (1968)

81. Malaisse, W., F. Malaisse-Lagae.
Wirkung von HB 419 auf die Insulinsekretion in vitro.
in: HB 419 - Tegernsee-Konferenz über das neue orale Antidiabetikum HB 419.
Farbwerke Hoechst A.G., Boehringer Mannheim G.m.b.H. (1969)

82. Mayhew.
Effect of sulfonylureas upon insulin secretion in vitro.
Fed. Proc. 26, 317 (1967)

83. Meier, H., G.A. Yerganian.
Spontaneous hereditary diabetes mellitus in chinese hamster.
Proc. Soc. Exp.Biol. 100, 810 (1959)

84. Meier, H., G. Yerganian.
Spontaneous hereditary diabetes mellitus in the chinese hamster.
III. Maintenance of a diabetic hamster colony with the aid of hypoglycemic therapy.
Diabetes 10, 19 - 20 (1961)

85. Miller, M., J.W. Craig.
The use of tolbutamide in the management of various types of diabetes mellitus and studies of possible mechanisms of its action.
Metabolism 5, 868 (1956)

86. Mirsky, J.A., G. Perisutti, D. Diengott.
Inhibition of insulinase by hypoglycemic sulfonamides.
Metabolism 5, 156 (1956)

87. Mirsky, J.A., S. Gifelson.
Comparison of the hypoglycemic action of tolbutamide in the fowl and other species.
Endocrinology 61, 148 (1957a)

88. Mirsky, J.A.
The role of insulinase in the hypoglycemic response to sulfonylureas
Ann. N.Y. Acad. Sci. 71, 103 (1957 b)

89. Morgan, C.R., A. Lazarow.
Immunoassay insulin: Two antibody systems.
Diabetes 12, 115 (1963)

90. Morgan, C.R., A. Lazarow.
Immunoassay insulin: Two antibody systems.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 110, 29 (1962)

90a. Morgan, C.R., R.L. Sorenson, A. Lazarow.
Further studies of an inhibitor of the two antibody immunoassay systems.
Diabetes, 13, 579 (1964)

91. Müller, R., G. Bauer, R. Sehröder, S. Saito.
Summary report of clinical investigation of the oral antidiabetic drug HB 419.
in: HB 419 - A new oral antidiabetic drug. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1969) Editors: R. Levine, E.F. Pfeiffer.

92. Otto, H., A. Körner
Erhöhung der Insulinaktivität des Serums in vitro durch Inkubation mit Sulfonylharnstoffen.
in: Oberdisse, K. , K. Jahnke Hgb. p. 62 Fortschritte der Diabetesforschung, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1963)

93. Otto, H., V. Halle, G. Thum.
Changes of serum insulin in healthy subjects after intravenous and peroral application of glibenclamide (HB 419).
in: HB 419 - A. new oral antidiabetic drug. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1969) Editors: R. Levine, E.F. Pfeiffer.

94. Pfaff, W., H.H. Schöne.
Zur Insulinfreisetzung aus Pankreas durch Sulfonylharnstoffe.
Arzneimittelforschung 19, 1445 (1969)

95. Pfaff, W., H.G. Schröder.
Zur Wirkung von HB 419 auf exogenes und endogenes Insulin bei Hunden und Kaninchen.
Arzneimittelforschung 19, 1488 (1969)

96. Pfaff, W., H.H. Schöne, H.G. Schröder.
Zum Wirkungsmechanismus von HB 419.
in: HB 419- Tegernsee-Konferenz über das neue orale Antidiabetikum HB 419 S. 42
Farbwerke Hoechst A.G., Boehringer Mannheim G.m.b.H. (1969)

97. Pfeiffer, E.F., H. Ditschuneit, K. Schöffling.
Die orale Diabetisbehandlung mit Sulfonylharnstoffen unter dem Aspekt des endokrinen Defektes beim Altersdiabetes.
Chemotherapia 2, 283 (1961)

98. Pfeiffer, E.F.
Handbuch des Diabetes mellitus. Pathophysiologie und Klinik.
Herausgegeben von: E.F. Pfeiffer, Ulm - Donau
J.F. Lehmanns Verlag, München (1969)

99. Porte, D.
A receptor mechanism for the inhibition of insulin release by epinephrine in man.
J. Clin. Invest, 46, 66 (1964)

100. Porte, D.
Beta adrenergic stimulation of insulin release in man.
Diabetes 16 , 150 (1967)

101. Puls, H. Frerichs.
Vergleichende Untersuchungen zur hypoglykämischen und seruminsulinsteigernden und U F S - beeinflussenden Wirkung von ß-cytotropen Antidiabetika an gesunden Versuchspersonen.
Kurzfassung der Vorträge der 76. Tagung der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin vom 6. - 9.4.1970 (S.66).

102. Quabbe, H.J., G. Kliems.
Verhalten von Plasmainsulin, Blutzucker und freien Fettsäuren nach Gabe von Tolbutamid und HB 419 bei Stoffwechselgesunden und Diabetikern.
in: HB 419 - Tegernsee-Konferenz über das neue orale Antidiabetikum HB 419, S. 82
Farbwerke Hoechst A.G., Boehringer Mannheim G.m.b.H.

103. Raptis, S., R.M. Rau, K.E. Schröder, J.D. Faulhaber, E.F.Pfeiffer
Comparative studies of insulin secretion following repeatet administration of glucose, tolbutamide and glibenclamide (HB 419) in diabetic and non-diabetic human subjects.
in: HB 419 - A new oral antidiabetic drug, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1969).

104. Recant, L., G.L. Fischer.
Studies on the mechanism of tolbutamide hypoglycemia in animal and human subjects.
Ann. N.Y. Acad, Sci. 71, 62 (1957) S.65.

105. Retiene, K., R. Petzoldt, C. Althoff-Zucker, J. Beyer, K.Schöffl
Clinical studies on glibenclamide.
in: HB 419 - A new oral antidiabetic drug, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1969) S. 55.

106. Ruiz, C.L., L.L. Silva, L. Libenson.
Contribución al estudio sobre la composición quimca de la insulina. Estudio de alguros cuerpos sintéticos sulfurados con acción hipoglucemiante.
Rev. Soc. argent. Biol. 6, 134 (1930).

107. Rupp, W., C. Christ, W. Heptner.
Resorption, Ausscheidung und Metabolismus nach i.v. und oraler Gabe von HB 419- ^{14}C an Menschen.
Arzneimittelforschung 19 , 1428 (1969)

108. Schmidt, H.A., P. Petrides.
Glucose- und HB 419 Konzentrationen im Blut sowie HB 419 Ausscheidung im Urin nach einmaliger oraler Applikation von HB 419- ^{14}C.
Arzneimittelforschung 19 , 1422 (1969)

109. Schöffling, K., R. Petzoldt, C. Althoff-Zucker, J. Beyer, K. Retiene, E. Böhle, W. Kunkel.
Klinische Erfahrungen mit dem oralen Antidiabetikum HB 419 (Glibenclamid)
Arzneimittelforschung 19, 1439 (1969)

110. Schultz, G., G. Senft, W. Losert, G. Sitt.
Biochemische Grundlagen der Diazoxid-Hyperglykämie.
Naunyn-Schmidebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 253, 372 (1966)

111. Senft, G., W. Losert, R. Sitt, [illegible] Schultz, Hoffmann.
Hemmung der Insulinkonzentration durch - Rezeptoren stimulierende Substanzen.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path.Pharmak. 260, 309 (1968)

112. Sims, E.A.H., B.R. Landau.
Diabetes mellitus in the chinese hamster.
I.Metabolic and morphologic studies.
Diabetologia 3, 115 (1967)

113. Schmidt, R.A., H. Stork, A. Bänder, [illegible]
Pharmacodynamische Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus von HB 419.
Arzneimittelforschung 19, 1369 (1969)

114. Sirek, O.V., M. Virgas, A. Niki, H. Niki, A. Sirek.
Beta-adrenergic stimulation and insulin release in dogs following HB 419.
Diabetologia 5, 207 - 210 (1969)

115. Söling, H.O.
Wirkungsmechanismus des Insulins. Die Insulinwirkung am Lebergewebe.
In: Handbuch des Diabetes mellitus, herausgegeben von E.F. Pfeiffer, Band 1 S. 511 J.F. Lehmanns - Verlag

116. Sussman, [illegible], [illegible] Vaughan.
Insulin release after [illegible], glucagon and adenosin- 3', 5' - [illegible] (cyclic AMP) in the perfused isolated rat pancreas.
Diabetes 16, [illegible] (1967).

117. Sutherland, [illegible], [illegible] Rodbard, [illegible] Butcher.
Some aspects of the biological role of [illegible] - 3', 5' - [illegible] (cyclic AMP).
Circulation 37, 279 (1968).

118. Turtle, I.R., D.M. Kipnis.
An adrenergic receptor mechanism for the control of cyclic 3', 5' - adenosine-monophosphate synthesis in tissue.
Biochem. Biophys. Res. Com. 28, 797 (1967).

119. Turtle, I.R., G.K. Littleton, D.M. Kipnis.
Stimulation of insulin secretion by theophylline.
Nature (London) 213, 727 (1967)

120. Vaughan, M.
In vitro studies on the action of sulfonamide hypoglycemic agents.
Science 123, 865 (1956)

121. Weaver, J.A., T.E. Prout, G.W. Scott, S.H. Asper.
Role of insulin in acute hypoglycemic action of tolbutamide.
Brit.Med.J. 1956/ I, 425 (1[illegible])

122. Weber, E.
Grundriß der biologischen Statistik.
6. Auflage, S.Fisch Verlag, Stuttgart (1967) S.501.

123. Weinges J.A., G. Biro, H. Kettl, M. Mitzuno.
Vergleichende Untersuchungen zwischen HB 19 (Glibenclamid) und Tolbutamid über ihre Wirkung auf die Insulinabgabe an isolierten Inseln des Rattenpankreas.
Arzneimittelforschung 19, 1467 (1969).

124. Wick, A.N., B. Britton, R. Grabowski.
The action of sulfonylurea hypoglycemic agent (orinase) in extrahepatic tissue.
Metabolism 6, 739 (1956).

125. Williamson, J.R., P.E. Lacy, J.W. Grisham.
Ultrastructural changes in islets of the rats produced by tolbutamide.
Diabetes 10, 460 (1961).

126. Winne, D.
Beurteilung eines unterschiedlichen Kurvenverlaufs.
Naunyn- Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 256, 319 (1967).

127. Yalow, R.S., H. Black, M.Villazon, S.A. Berson.
Comparison of plasma insulin levels following administration of tolbutamide and glucose.
Diabetes 9, 356 (1960).

Mein Dank gilt an dieser Stelle:

Herrn Professor Dr. med. Martin K r a m e r
für freundliche Überlassung des Themas,

Herrn Dr. med. Wolfgang L o s e r t, Leiter des
Hauptlabors der Fa. Schering A.G., Berlin
für die hervorragende Beratung in allen Sachfragen,

sowie den Mitarbeitern des Labors der Fa. Schering A.G.,
insbesondere Fräulein Annegret W a r b u r g und
Herrn Peter J a h n .

L e b e n s l a u f .

ame: Karin R o s e n t h a l
geboren am 21.Mai 1941 in Braunschweig

ltern: Helmuth Rosenthal und
Anna- Luise Rosenthal geb. Herbing

ildungsweg: April 1948 - April 1952
Volksschule Remlingen Kreis Wolfenbüttel

April 1952 - April 1954
Mittelschule in Wolfenbüttel

April 1954 - Februar 1962
Anna Vorwerk - Schule, Neusprachliches Gymnasium
für Mädchen, Naturwissenschaftlicher Zweig
in Wolfenbüttel

Abitur im Februar 1962

Vom SS 1962 bis WS 1967/1968 Studium der Medizin
an der Freien Universität Berlin

Vorphysikum: im März 1963
Physikum: Mai 1965
Staatsexamen: beendet am 29. September 1968

Medizinalassistentenzeit: 1. Januar 1969 - Oktober 1969
im Hauptlabor (Pharmakologie) der
Schering A.G. , Berlin

1. Februar 1970 - 31. März 1970
in der Gynäkologischen Abteilung des
Auguste Viktoria Krankenhauses, Berlin

1. April 1970 - 31. August 1970
in der Chirurgischen Abteilung des
St. Joseph Krankenhauses, Berlin.

K. Rosenthal